

**UNTERSUCHUNGEN ZU AUSSCHIEDUNGSDAUER
UND WIRKSAMKEIT NACH DEM TROCKENSTELLEN
VON KÜHEN MIT EINEM OXACILLINPRÄPARAT**

ANGELA FEUERSTEIN

Disbui. München

1987



Aus dem Institut für Hygiene und Technologie
der Lebensmittel tierischen Ursprungs
(Lehrstuhl: Prof. Dr. G. TERPLAN)
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

UNTERSUCHUNGEN ZU AUSSCHIEDUNGSDAUER UND WIRKSAMKEIT
NACH DEM TROCKENSTELLEN VON KÜHEN
MIT EINEM OXACILLINPRÄPARAT

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der
tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Angela Feuerstein

aus Lonsee

München 1987

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. G. Terplan

Korreferent: Prof. Dr. H. Mahnel

Tag der Promotion: 27. Februar 1987

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1 EINLEITUNG	1
2 SCHRIFTTUM	2
2.1 <u>Hemmstoffe in der Milch</u>	2
2.2 <u>Antibiotikarückstände in Milch</u>	3
2.3 <u>Rückstände in Milch nach Anwendung von Antibiotika beim Trockenstellen oder in der Trockenperiode</u>	6
2.4 <u>Pharmakokinetik von Antibiotika-haltigen Trockenstellern</u>	18
2.5 <u>Rechtliche Beurteilung von Antibiotikarückständen in Milch</u>	26
3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN	32
3.1 <u>Material</u>	32
3.1.1 Trockensteller	32
3.1.2 Versuchstiere	34
3.2 <u>Methodik</u>	35
3.2.1 Applikation des Trockenstellers	35
3.2.2 Probeentnahme	36
3.2.3 Nachweis von Hemmstoffen	36
3.2.3.1 Agar-Diffusionstest	37
3.2.3.2 Brillantschwarz-Reduktionstest	38
3.2.4 Nachweis von Mastitis-Erregern	39
3.2.5 Zytologische Untersuchungen	42
3.2.5.1 Schalm-Mastitis-Test	43
3.2.5.2 Kieler Ausstrichverfahren	44

	Seite
4	45
ERGEBNISSE	
4.1	46
<u>Nachweis von Hemmstoffen</u>	
4.1.1	46
Agar-Diffusionstest	
4.1.1.1	48
Häufigkeit hemmstoffpositiver Befunde	
4.1.2	57
Brillantschwarz-Reduktionstest	
4.1.2.1	57
Häufigkeit hemmstoffpositiver Befunde	
4.2	59
<u>Zytologische Untersuchungen</u>	
4.3	62
<u>Bakteriologische Untersuchungen</u>	
4.3.1	62
Vor dem Trockenstellen	
4.3.2	66
Nach dem Abkalben	
5	69
BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE UND DISKUSSION	
6	86
ZUSAMMENFASSUNG	
7	88
SUMMARY	
8	
LITERATURVERZEICHNIS	

ANHANG

1 EINLEITUNG

Eine wichtige Maßnahme zur Behandlung der subklinischen Mastitis des Rindes und zur Vermeidung von Neuinfektionen während der Laktationsruhe stellt die intramammäre Trockenzeitbehandlung mit Antibiotika nach dem letzten Melken dar. Sie erfolgt üblicherweise mit Präparaten, deren Formulierung und Zusammensetzung so abgestimmt sind, daß über einen möglichst langen Zeitraum eine therapeutische Wirksamkeit gegen euterpathogene Keime gewährleistet ist. Um zu verhindern, daß Rückstände der betreffenden Langzeitantibiotika in der verkehrsfähigen Milch der nachfolgenden Laktation vorhanden sind, wurden vom Gesetzgeber Wartezeiten festgelegt.

In den letzten Jahren wurden Fälle aus der Praxis bekannt, in denen nach dem Trockenstellen mit einem Oxacillin-Präparat nach Ablauf der Wartezeit noch Rückstände in der Milch zu finden waren. Aufgabe dieser Arbeit war es zu prüfen, ob es sich bei diesen verlängerten Ausscheidungszeiten um Ausnahmefälle handelt, oder ob sie regelmäßig auftreten. Außerdem wurde die Wirksamkeit des Präparates durch Untersuchungen der Viertelgemelke vor dem Trockenstellen und nach dem Abkalben kontrolliert.

2 SCHRIFTTUM

2.1 Hemmstoffe in der Milch

Hemmstoffe sind im weiteren Sinne des Wortes Stoffe, die bereits in geringen Mengen eine antibiotische Wirkung (MILCH-GÜTEVERORDNUNG) haben. Es kann sich hierbei um körpereigene Abwehrstoffe oder um Rückstände aktiv oder passiv vom Körper aufgenommener Wirkstoffe (Arzneimittel, Futter, Insektizide) handeln, die mit der Milch ausgeschieden werden. Außerdem kommen Chemikalien in Betracht, die postsekretorisch in die Milch gelangt sind (z.B. Reinigungs- und Desinfektionsmittel) oder der Milch absichtlich zugefügt werden (z.B. Konservierungsmittel).

Allen diesen Stoffen ist eine wachstumshemmende oder abtötende unterschiedlich spezifische Wirkung auf Mikroorganismen eigen, unabhängig davon, ob sie von Organismen gebildet oder synthetisch hergestellt werden (TERPLAN und ZAADHOF, 1967; GEDEK, 1984). Eine Übersicht über das Vorkommen derartiger Hemmstoffe in der Milch findet sich bei NEUMANN (1987). Auf die Antibiotikarückstände, die von NEUMANN nicht berücksichtigt werden, wird in Abschnitt 2.2 kurz eingegangen.

2.2 Antibiotikarückstände in Milch

Für das Vorkommen von Arzneimittelnrückständen in Milch kommen ursächlich therapeutische sowie prophylaktische bzw. metaphylaktische Anwendungen von Arzneimitteln am Tier in Betracht (TERPLAN et al., 1979). Besondere Bedeutung haben dabei die in der Praxis häufig verwendeten Antibiotika, deren Rückstände den überwiegenden Anteil der in der Milch nachgewiesenen Hemmstoffe ausmachen. Da in Milch auftretende Antibiotikarückstände ein Risiko für den Konsumenten darstellen können (Einzelheiten z.B. bei PICHNARCIK et al., 1969; TERPLAN und ZAADHOF, 1975; BECKER, 1976; MÖLLE, 1983; SCHMID, 1983) bzw. erhebliche wirtschaftliche Schäden (siehe z.B. bei GROSSKLAUS, 1967; TERPLAN und ZAADHOF, 1967; LIMMER, 1969; BEYER, 1986) insbesondere bei der Verarbeitung der Milch zu fermentierten Milchprodukten bedingen können, wurden lebensmittelrechtliche und marktwirtschaftliche Regelungen getroffen (s. Abschnitt 2.5), um das Vorkommen derartiger Rückstände soweit als möglich auszuschließen. Der Publikation von TERPLAN et al. (1979) ist zu entnehmen, daß zwar bis Ende der 60iger Jahre etwa 2 - 8 % der Anlieferungsmilchen hemmstoffpositiv waren, die Prozentsätze danach aber deutlich abnahmen. Bei den im Rahmen der Milch-Güteverordnung in der Bundesrepublik Deutschland vorgenommenen regelmäßigen Stichprobenuntersuchungen von Anlieferungsmilch reagieren jetzt jährlich etwa 0,2 % positiv (BEYER, 1986). In Baden-Württemberg und in Bayern lag der Anteil der hemmstoffpositiven Proben im Jahr 1985 mit 0,05 - 0,1 % (GEHRINGER, 1986) bzw. 0,11 % (MILCHPRÜFRING BAYERN, 1986) sogar noch etwas niedriger. Diese deutliche Verbesserung läßt sich insbesondere dadurch erklären, daß die Milch aller Erzeuger entsprechend der Milch-

Güteverordnung zweimal monatlich auf die Anwesenheit von Hemmstoffen kontrolliert wird und ein positiver Nachweis eine spürbare Kürzung des Auszahlungspreises zur Folge hat.

Die Rückstandsbildung wird durch Faktoren wie Art und Formulierung des Präparates, Dosierung, Resorptionsfähigkeit des Drüsengewebes, Milchleistung und insbesondere die Applikationsart beeinflusst, wobei sich für die Milch im Hinblick auf die Dauer der Rückstandskonzentrationen und die Ausscheidung folgende aufsteigende Reihenfolge der Applikationsarten ergibt: oral, intrauterin, parenteral und intrazisternal (DEUTSCHE FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT, 1983). Der vielschichtigen Literatur (Übersichten dazu im deutschen Schrifttum z.B. bei REUSSE (1961) sowie TERPLAN und ZAADHOF (1967)) ist zu entnehmen, daß die Antibiotika bei der intrazisternalen Therapie zumeist über mehrere Tage (s.a. Übersicht 1), bei den anderen Applikationsarten i.d.R. aber über einen kürzeren Zeitraum mit der Milch ausgeschieden werden. Dabei scheinen die Aus-

Übersicht 1: Ausscheidungsdauer von Antibiotikarückständen in Milch nach intrazisternaler Verabreichung (nach MARX und HAMANN, 1982)

Antibiotikum	Ausscheidungsdauer
Benzylpenicilline, Streptomycin, Dihydrostreptomycin, Erythromycin, Chloramphenicol	bis 48 Stunden
Prokain-Penicillin, Prokain- mit Benzylpenicillinen kombiniert, Tetracycline, Neomycin	bis 4 Tage
Benzyl- bzw. Prokain-Penicillin kombiniert mit Streptomycin	4 - 7 Tage
Benzathin-Penicillin, Isoxazolympenicilline	6 - 10 Tage

scheidungsverhältnisse nach intramuskulärer Verabreichung jenen nach intravenöser (TERPLAN und ZAADHOF, 1967) bzw. subcutaner (MÖLLE, 1983) Applikation weitgehend zu gleichen (Ausscheidung i.a. nach 72 Std. abgeschlossen). Bei intrauteriner Applikation betrug die Ausscheidungsdauer oft sogar nur einige Stunden (MAURER-SCHWEIZER, 1973; UHLIG, 1973; GEDEK et al., 1975a und b; FIEBIGER, 1976; MATZKE und GEDEK, 1983; u.a.).

Einzelheiten zu dieser Thematik können den aufgeführten Publikationen sowie den in ihnen erwähnten Arbeiten entnommen werden. Es läßt sich unabhängig davon zusammenfassend der Schluß ziehen, daß die intrazisternale Verabreichung von Antibiotika in erster Linie für das Auftreten von Hemmstoffen in der Milch verantwortlich ist.

Auf das Vorkommen von Antibiotikarückständen in Milch nach intrazisternaler Verabreichung von Antibiotika beim Trockenstellen oder in der Trockenperiode wird in Abschnitt 2.3 ausführlich eingegangen.



2.3 Rückstände in Milch nach Anwendung von Antibiotika beim Trockenstellen oder in der Trockenperiode

Die Vorteile des Antibiotikaeinsatzes beim Trockenstellen wurden schon bald nach Einführung von Antibiotika in die Mastitistherapie erkannt. Auf diese Weise ließen sich nämlich einerseits Euterinfektionen erfolgreicher bekämpfen als in der Laktationsphase bzw. die Häufigkeit von Neuinfektionen in der Trockenperiode deutlich reduzieren (JOHNSON, 1941; SCHALM und ORMSBEE, 1949; DODD und NEAVE, 1951; PEARSON, 1951; u.a.). Die Antibiotikatherapie beim Trockenstellen wurde fast ausschließlich in Problembeständen vorgenommen, wobei Laktationsformulierungen zur Anwendung kamen (DODD und GRIFFIN, 1975). Über die Verweildauer solcher Präparate im trockengestellten Euter liegen nur wenige Angaben vor. PEARSON (1951), der Penicillin-Calcium bzw. Prokain-Penicillin (10.000 oder 250.000 I.E.) in einer Erdnußöl und Bienenwachs oder Aluminiummonostearat enthaltenden Basis einsetzte, fand 5 - 14 Tage nach der Applikation Rückstände, UVAROV (1960) registrierte bei Infusion von 300.000 I.E. Prokain-Penicillin in Mineralöl mit 3 % Aluminiummonostearat sogar 21 Tage danach noch deutliche Antibiotikaspiegel in den Viertelsekreten. SMITH et al. (1967b) berichteten schließlich, daß selbst bei einer Dosis von 5.000.000 I.E. Penicillin G/Viertel (wäßrige Lösung bzw. ölige Suspension) nach 6 Tagen maximal 0,4 I.E. Penicillin/ml und nach 13 Tagen keine Rückstände ($\leq 0,01$ I.E./ml) mehr nachweisbar waren. Von allen Autoren wurde darauf hingewiesen, daß z.T. erhebliche Unterschiede im Ausscheidungsverhalten der einzelnen Tiere bestanden.

Erst von NEAVE et al. (1966) wurde die Bedeutung der systematischen Antibiotikatherapie beim Trockenstellen als effektive Mastitiskontrollmaßnahme herausgestellt. Für diese Zwecke wurden dann Antibiotikaformulierungen entwickelt, die eine möglichst lange therapeutisch wirksame Antibiotikakonzentration im Euter gewährleisten. Ein Beispiel hierfür sind die von SMITH et al. (1966 und 1967a) beschriebenen Modellexperimente mit Cloxacillin, das sich auch gegenüber penicillinase-bildenden Staphylokokken als effektiv erwies. Aus den in der Übersicht 2 wiedergegebenen Resultaten geht hervor, daß das schwerer lösliche Benzathincloxacillin länger im Trockensekret nachweisbar war als Natriumcloxacillin und daß die Art des Trägerstoffs eine wesentliche Rolle für die Persistenz des Wirkstoffes spielte (die Einmischung von Cloxacillin in Mineralöl mit 3 % Aluminiummonostearat resultierte im Vergleich zu jener in Wasser, Silikon oder dickflüssigem Paraffin in einer deutlich verlängerten Ausscheidungszeit). Im Gegensatz dazu war die Cloxacillindosis (0,5 g bzw. 1 g pro Eutervierviertel) ohne signifikanten Einfluß auf die Verweildauer im trockengestellten Euter. Aufgrund dieser Experimente und eigenen Untersuchungen an 69 Kühen kamen NEAVE et al. (1967) dann zu dem Schluß, daß eine Behandlung mit 0,5 g Benzathincloxacillin in Aluminiummonostearat-Mineralöl-Basis zur Vermeidung von Cloxacillin-Rückständen in der folgenden Laktation stets früher als 28 Tage vor dem Abkalben erfolgen sollte.

Die Verweildauer des von der Fa. Beecham unter dem Handelsnamen "Orbenin^R dry cow" bzw. "Gelstaph^R T.S." vertriebenen Präparates (500 mg Cloxacillin in 2,5 ml bzw. 3 g öligem Suspension) wurde von SCHMID (1969), MEYER (1971), SCHMID et al. (1973), ZIV et al. (1973a)

Übersicht 2: Persistenz von anlässlich des Trockenstellens applizierten Cloxacillinpräparationen in Abhängigkeit von Löslichkeit des Antibiotikums, Dosis des Antibiotikums und Art des Trägerstoffs

Cloxacillin	Dosis/ Viertel	Trägerstoff	Anzahl der behandelten Viertel	Dauer der Ausscheidung	Nachweisgrenze (µg/ml)	Autoren
Na-Salz	0,2 g	3 % Aluminium- monostearat in Mineralöl (AMS)	./.	ca. 3 Tage	./.	SMITH et al. (1966)
Benzathin-Salz	1 g	3 % AMS	./.	mind. 3 Wochen	./.	
Benzathin-Salz	1 g	Wasser	6	1 - 2 Wochen	} ^{4,6} (unbehandelte Kontrollen)	SMITH et al. (1967a)
Benzathin-Salz	1 g	Silikon	6	2 Wochen		
Benzathin-Salz	1 g	3 % AMS	6	2 - 3 Wochen		
Benzathin-Salz	1 g	3 % AMS	18	2 - 5 ⁺ Wochen	0,1	SMITH et al. (1967a)
Na-Salz	0,2 g	3 % AMS	12	6 - 8 ⁺ Tage	0,1	SMITH et al. (1967a)
Benzathin-Salz	1 g	3 % AMS	6	28 ⁺ Tage	0,1	
Benzathin-Salz	0,5 g	3 % AMS	7	21 - 28 ⁺ Tage	0,1	SMITH et al. (1967a)
Benzathin-Salz	0,5 g	5 % AMS	7	28 ⁺ Tage	0,1	
Benzathin-Salz	0,5 g	dickflüssiges Paraffin	6	8 - 14 Tage	0,1	
Na-Salz	1 g	3 % AMS	6	8 - 14 Tage	0,1	

⁺) letzter Untersuchungszeitpunkt; ./. = keine Angaben

sowie NEUMEISTER et al. (1975) ermittelt. SCHMID (1969), der insgesamt 84 Kühe mit o.a. Präparat trockenstellte, konnte bis zum 37. Tag der Trockenperiode in keinem Fall völlige Hemmstofffreiheit feststellen. Die Cloxacillinkonzentrationen in den Viertelgemelken beliefen sich zwischen 29. und 37. Tag post applicationem noch auf durchschnittlich 0,6 µg/ml. Nach ZIV et al. (1973a) betrug die durchschnittliche Rückstandsmenge 14 bzw. 21 Tage nach dem Trockenstellen 3,6 bzw. 3,0 µg/ml, am 45. Tag nach der Behandlung war die Konzentration aber deutlich abgesunken (zwischen 0,25 und 0,5 µg/ml). NEUMEISTER et al. (1975) wiesen Cloxacillin durchschnittlich 4,3 Wochen (Extreme: 2 bzw. 6 Wochen) in "therapeutischen Mengen" im Trockensekret nach.

Bei Einsatz eines anderen, 500 mg Benzathincloxacillin enthaltenden Injektors (Bristol) bei 34 Kühen und Untersuchung der Kolostralmilch (Trockenzeit: 11 bis über 60 Tage) ergaben sich nach OLIVER et al. (1984) zwar in zwei Fällen positive Reaktionen im Delvotest, doch ließen sich diese Ergebnisse nach Erhitzung der Proben (5 Minuten auf 82 °C) im Agar-Diffusionstest mit *B. stearothermophilus* var. *calidolactis* nicht bestätigen. HILL und SMALL (1985) sind bisher offensichtlich die einzigen Untersucher, die bei 3 von 10 mit 500 mg Cloxacillin trockengestellten Vierteln Rückstände in der Kolostralmilch fanden, und zwar zweimal für 1 Melkzeit (nach einer Trockenperiode von 8 Wochen) bzw. einmal für 10 Melkzeiten (Trockenperiode: 12 Wochen).

Einige Untersucher verabfolgten den cloxacillinhaltigen Trockensteller nicht anlässlich des Trockenstellens, sondern erst im Laufe der Trockenperiode. MEYER (1971), der 1, 2 oder 3 Wochen nach dem Trockenstellen mit dem Präparat der Fa. Beecham behandelte und Proben jeweils nach Ablauf von 1, 2 bzw. 3 Wochen entnahm, fand stets

Rückstände im Trockensekret (0,1 bis 1,0 µg/ml). Dabei berichtete er von einer Tendenz zu höheren Werten, je weiter das Trockenstadium bei der Cloxacillin-Infusion fortgeschritten war. JOHNSON et al. (1977), die 8 Kühen 7 - 18 Tage vor dem Abkalben 500 mg Benzathincloxacillin (in 7,5 g Basis) applizierten, beobachteten bei zwei 8 Tage zuvor behandelten Kühen Rückstände in Viertelgemelken (Nachweisgrenze: 0,25 µg/ml), und zwar direkt bzw. 12 Std. nach dem Abkalben. HILL und SMALL (1985) ermittelten schließlich bei 14 von 18 im Trockenstadium (1 - 10 Wochen vor dem Abkalben) mit 500 mg Cloxacillin versorgten Kühen Rückstände in der nachfolgenden Laktation. Bei 8 Kühen ließen sich mit *B. stearothermophilus* var. *calidolactis* als Testkeim Rückstände länger als 5 Tage, im Extremfall sogar 30 Tage nach dem Abkalben nachweisen.

Von der Firma Beecham werden im übrigen für Milch folgende Wartezeiten bei Applikation von "Gelstaph.^R T.S." angegeben (Gebrauchsinformation): Bei Tieren, die früher als 35 Tage vor dem Zeitpunkt der Geburt behandelt wurden, bis einschließlich 5 Tage nach Laktationsbeginn, bei Tieren, die innerhalb von 35 Tagen vor dem Zeitpunkt der Geburt behandelt wurden, 40 Tage.

Ein anderes halbsynthetisches Isoxazolyl-Penicillin ist Oxacillin, das als Trockensteller mit 1000 mg Oxacillin - in Form von 219,9 mg Oxacillin-Natrium-Monohydrat und 1039,5 mg Oxacillin, N,N-Dibenzyl-äthylendiamin-Salz (2:1) in 7,5 g neutraler Salbengrundlage - unter dem Namen "Stapenor^R retard" (Bayer) im Handel ist. Daten zur Verweildauer von Oxacillin im Euter nach Behandlung beim Trockenstellen bzw. in der Trockenzeit finden sich bei WEIGT et al. (1971), GARHAMMER (1972), GHANE-KHIABANIAN (1972), WALLNER (1972), SCHMID et al. (1973), NEUMEISTER et al.

(1975) sowie HAMANN und HEESCHEN (1983). WEIGT et al. (1971) berichteten, daß bei mit dem Versuchspräparat "Bayer 9035 NS" aufgrund von Zitzenverletzungen trocken-gestellten Eutervierteln nach 3 Wochen ein an der Grenze der therapeutischen Wirksamkeit liegender Antibiotikaspiegel von $1 \mu\text{g/ml}$ Trockensekret gemessen wurde. Nach NEUMEISTER et al. (1975) war Oxacillin durchschnittlich 3,9 Wochen (Spanne: 2 - 6 Wochen) nachweisbar; die Publikation enthält zwar keine Angaben über die Oxacillin-Konzentrationen, doch ist aufgrund der Daten für Cloxacillin davon auszugehen, daß es sich um "therapeutische Mengen" handelt. GARHAMMER (1972), der insgesamt 87 Kühe mit "Stapenor^R retard" behandelte und von jeder Kuh einmal Proben nahm, registrierte dagegen noch am Ende seiner Untersuchungen (58. Tag nach Applikation) Rückstände in den Trockensekreten ($0,05 \mu\text{g/ml}$). Die von ihm zu unterschiedlichen Zeitpunkten ermittelten durchschnittlichen Rückstandskonzentrationen in Viertelgemelken sind in Übersicht 3 wiedergegeben und den Resultaten von HAMANN und HEESCHEN (1983) gegenübergestellt. Dabei zeigt sich, daß auch in der 8. Woche noch Oxacillin (im Durchschnitt $0,08$ bzw. $0,03 \mu\text{g/ml}$) nachgewiesen wurde und daß die von den letztgenannten Autoren angegebenen Durchschnittskonzentrationen für die 4. - 6. Woche deutlich höher waren als die von GARHAMMER (1972) registrierten Werte.

Übersicht 3: Durchschnittliche Oxacillinkonzentrationen im Trockensekret nach Applikation eines Injektors "Stapenor^R retard" je Euterviertel zum Zeitpunkt des Trockenstellens (nach GARHAMMER, 1972 bzw. HAMANN und HEESCHEN, 1983)

Wochen post applicationem	Anzahl der Viertelpuben		Konzentrationen (µg/ml)			
	+) .	++)	$\bar{x}_a \pm s$ +)	$\bar{x}_a \pm s$ ++)		
1	./.	24	./.	11,78 $\pm$ 17,34		
2	44	36	8,01 $\pm$ 9,30	2,77 $\pm$ 2,69		
3	32	24	0,77 $\pm$ 1,28	0,43 $\pm$ 0,52		
4	60	36	0,22 $\pm$ 0,25	1,76 $\pm$ 1,99		
5	88	24	0,18 $\pm$ 0,29	1,26 $\pm$ 1,59		
6	48	24	0,31 $\pm$ 0,56	1,35 $\pm$ 1,68		
7	48	16	0,21 $\pm$ 0,43	0,04 $\pm$ 0,03		
8	24	12	0,08 $\pm$ 0,05	0,03 $\pm$ 0,02		
(58 Tage)	4	./.	0,05	./.		

+) GARHAMMER (1972); ++) HAMANN und HEESCHEN (1983)

GHANE-KHIABANIAN (1972), der 67 Kühe 6 - 9 Wochen vor dem Abkalben mit "Bayer 9035 NS" trockengestellt hatte, fand bei Prüfung von Kolostralmilch im Hemmstofftest mit *B. stearothermophilus* var. *calidolactis* (TERPLAN und ZAADHOF, 1969) höchstens 1 Tag post partum Rückstände im Gesamtgemelk. HAMANN und HEESCHEN (1983) registrierten dagegen bei vergleichbarem Behandlungszeitraum noch am 8. Tag nach dem Abkalben Rückstände. Die arithmetischen Mittelwerte der Oxacillinkonzentrationen in den Gesamtgemelken lagen dabei in den ersten 4 Tagen in einem Bereich von 0,034 - 0,014 µg/ml und während des restlichen Beobachtungszeitraumes zwischen 0,007 und 0,003 µg/ml.

WALLNER (1972) verfolgte das Verhalten von "Stapenor^R retard" bei Applikation in der Trockenzeit. Von 6 Kühen, denen das Produkt 8 - 21 Tage vor dem Abkalben verabfolgt wurde, schieden 5 Kühe noch am letzten Untersuchungstag (10. Tag nach dem Abkalben) Oxacillin mit dem Gesamtgemelk aus, während der Nachweis bei der sechsten Kuh am 7. Tag p.p. negativ verlief (Nachweisgrenze: 0,03 µg/ml). In der Milch der drei 26 - 30 Tage vor dem Abkalben mit dem Trockensteller versorgten Tiere waren Rückstände am 6. und 7. Tag (1 Tier) bzw. 6., 7. und 10. Tag (1 Tier) p.p. nachzuweisen, während beim dritten Tier ebenso wie bei sechs mindestens 31 Tage vor dem Abkalben behandelten Kühen in der Milch der nachfolgenden Laktation keine Rückstände gefunden wurden. Auffällig lang war die Verweildauer von Oxacillin bei einer ca. 5 Wochen trockengestellten Kuh, die noch ca. 20 Wochen nach dem Abkalben Rückstände in nachweisbaren Mengen ausschied (TERPLAN, 1983).

Entsprechend der Produktinformation der Fa. Bayer gelten für "Stapenor^R retard" folgende Wartezeiten in

bezug auf die Milch der nachfolgenden Laktation: "Wenn die Behandlung mindestens 35 Tage vor der Geburt erfolgte, so ist die Wartezeit für Milch fünf Tage post partum. Geschieht das antibiotische Trockenstellen weniger als 35 Tage vor dem Kalben, so beträgt die Wartezeit 40 Tage ab Behandlung."

Die für Trockensteller mit anderen antibiotischen Wirkstoffen in der Literatur genannten Verweilzeiten sind in den Übersichten 4 und 5 zusammengestellt. Aus Übersicht 4 geht hervor, daß die Ergebnisse aufgrund der verschiedenartigen Präparate zwar erwartungsgemäß stark variierten, Rückstände im Trockensekret aber - wenn überhaupt - überwiegend etwa bis zu 3 - 5 Wochen und maximal bis zu etwa 2 Monate lang (GEDEK et al., 1976) nachweisbar waren. Bei Kombinationspräparaten aus Penicillin und Dihydrostreptomycin (DHS) bzw. Neomycin war die Verweildauer des Penicillins i.a. kürzer als jene der beiden anderen Antibiotika (JACOBS et al., 1972; PUGH et al., 1973; ZIV et al., 1973a; GEDEK et al., 1976). In der Milch der nachfolgenden Laktation (siehe Übersicht 5) wurden Antibiotikarückstände zumeist nur beobachtet, wenn die Behandlung im Verlaufe der Trockenperiode erfolgte und zwischen Behandlung und Abkalben nur wenige Tage vergangen waren. Zwar berichteten PUGH et al. (1973) bzw. JOHNSON et al. (1977), daß die Milchproben frei von Rückständen waren, wenn die intramammären Infusionen mehr als 4 bzw. 9 Tage vor dem Abkalben vorgenommen worden waren, doch lassen die Resultate anderer Autoren erkennen, daß auch bei 4 Wochen vor dem Abkalben antibiotisch versorgten Kühen Rückstände zumindest in den ersten Tagen post partum in der Milch vorhanden waren (MOL et al., 1970; GEDEK und RICHTER, 1972; HILL und SMALL, 1985). Es wurde daher von den Untersuchern empfohlen, die erwähnten, überwiegend

Penicillin in Kombination mit Dihydrostreptomycin oder einem anderen Antibiotikum enthaltenden Trockensteller mindestens 4 Wochen (GEDEK und RICHTER, 1972), 5 Wochen (JACOBS et al., 1972), 6 Wochen (HILL und SMALL, 1985), 45 Tage (OLIVER et al., 1984) bzw. 60 Tage (MOL et al., 1970) vor dem Abkalbedatum zu verabreichen und andernfalls die Milch der nachfolgenden Laktation vor Ablieferung an die Molkerei auf die Anwesenheit von Rückständen untersuchen zu lassen. Offensichtlich ist aber selbst dann, wenn Kühe 60 Tage vor dem Abkalben unter Antibiotikaschutz trockengestellt werden, nicht mit Sicherheit auszuschließen, daß in der nachfolgenden Laktation Rückstände noch über längere Zeit - z.B. etwa 5 Monate (SCHÄLLIBAUM, 1986) - ausgeschieden werden. Im übrigen lassen fast alle Untersuchungen hinsichtlich der Ausscheidungsdauer und -menge erhebliche Unterschiede zwischen einzelnen Tieren erkennen, während über deutliche Schwankungen bei den Viertelgemelken einer Kuh nur vereinzelt berichtet wurde (MOL et al., 1970; GEDEK und RICHTER, 1972; GEDEK et al., 1976; JOHNSON et al., 1977). Die Ursache für die individuellen Unterschiede ist nicht bekannt, nach GEDEK und RICHTER (1972) läßt sie sich nicht auf eine unterschiedliche Milchleistung der Kühe zurückführen.

Übersicht 4: Verweildauer von Antibiotikarückständen im Euter (Trockensekret) nach Applikation von Trockenstellern.

Trockensteller	Verweildauer	Konzentration/ml	Autoren
200 000 IE Prokain Pen.G + 100 000 IE Benzathin Pen.G + 200 mg Nitrofurazon	21 Tage	$\bar{x}$: 0,09 IE Pen.	JACOBS et al. (1972)
500 000 IE Prokain Pen.G + 300 mg Neomycin	28 Tage	$\bar{x}$: 1,1 µg Neomyc.	JACOBS et al. (1972)
1 g Prokain Pen.G + 0,5 DHS *	35 Tage	$\bar{x}$: 10,8 µg Strept.	PUGH et al. (1973)
800 000 IE Prokain Pen.G + 1 g DHS	32 Tage	$> 2 \mu\text{g Strept.}$	ZIV et al. (1973a)
1.200 000 IE Benzathin Pen.G + 1 g DHS	42 Tage	ca. 0,1 IE Pen.	ZIV et al. (1973a)
100 000 IE Prokain Pen.G + 500 mg Furaltadon	8 Tage	$\bar{x}$: $< 0,01$ IE Pen.	ZIV et al. (1973a)
1.200 000 IE Natrium-Pen.G + 1 g DHS	22 Tage	$> 1 \mu\text{g Strept.}$	ZIV et al. (1973a)
200 000 IE Benzathin Pen.G + 400 mg DHS	5 Wochen ($\bar{x}$: 3,8 Wochen)	./. therapeutische Mengen	NEUMEISTER et al. (1975)
1.000 000 IE Prokain Pen.G + 1 g DHS	7 Wochen ($\bar{x}$: 5,3 Wochen)	./. therapeutische Mengen	NEUMEISTER et al. (1975)
1.000 000 IE Prokain Pen.G + 1 g DHS	a) 55 Tage b) 60 Tage	$\geq 0,5 \mu\text{g Strept.}$	GEDEK et al. (1976)
500 000 IE Prokain Pen.G + 600 mg Novobiocin	14 Tage	0,008 IE Pen.	SCHULTZE und MERCER (1976)
500 mg Neomycin	a) 33 Tage b) 19 Tage c) 7 Tage	0,25 µg $\bar{x}$: $< 0,1 \mu\text{g}$ $\bar{x}$: 0,2 µg	ZIV et al. (1973b)
600 mg Erythromycin	6 Tage	$\bar{x}$: 0,1 µg	ZIV et al. (1973b)
500 mg Chloramphenicol	negativ (4.Tag)	$< 2,5 \mu\text{g}$	ZIV et al. (1973b)

* DHS = Dihydrostreptomycin

Übersicht 5: Verweildauer von Antibiotikarückständen im Euter (Milch der nachfolgenden Laktation) nach Applikation von Trockenstellern

Trockensteller	Behandlung a.p.	Maximale Verweil- dauer nach Abkalben	Konzentration/ml	Autoren
300.000 IE Prokain Pen.G	ca. 2 Monate	negativ (1. Tag)		MOL u. BAKKER DE KOFF (1969)
	24-75 Tage	14 1/2 Tage		MOL et al. (1970)
500.00 IE Benzathin- Pen.G + 0,5 g Chlor- amphenicol + 0,5 g Sulfonamid	2-39 Tage	21 Tage	0,03 IE	GEDEK u. RICHTER (1972)
200.000 IE Prokain Pen.G + 100.000 IE Benzathin Pen. + 200 mg Nitrofurazon	5 1/2-18 Wochen	Kolostrum	Spuren	JACOBS et al. (1972)
500.000 IE Prokain Pen.G + 300 mg Neomycin	6-21 Wochen	Kolostrum	Spuren	JACOBS et al. (1972)
1 g Prokain Pen.G + 0,5 g DHS	2-35 Wochen	4 Tage	./. (TTC-Test)	PUGH et al. (1973)
1.000.000 IE Prokain Pen.G + 1 g DHS		negativ (4. Tag)	≤ 0,008 IE Pen. ≤ 0,25 µg Strept.	GEDEK et al. (1976)
500.000 IE Prokain Pen.G + 600 mg Novobiocin	3-21 Wochen	negativ (1. Tag)	< 0,01 IE Pen. < 0,5 µg Novobiocin	SCHULTZE u. MERCER (1976)
1.000.000 IE Prokain Pen.G + 1 g DHS	1-24 Tage	5 Tage	0,014 IE Pen.	JOHNSON et al. (1984)
1.000.000 IE Prokain Pen.G + 1 g DHS	11-60 Tage	negativ (1.Tag)	./. (Delvotest)	OLIVER et al. (1984)
1.000 mg Prokain Pen. + 500 mg DHS	1-16 Wochen	40 Tage	▷ 0,003 IE Pen.	HILL u. SMALL (1985)
300 mg Prokain Pen. + 100 mg DHS + 100 mg Nafcillin	2-19 Wochen	16 Tage	▷ 0,003 IE Pen.	HILL u. SMALL (1985)
1.000.000 IE Prokain Benzylpen. + 500.000 IE Benzathin Benzylpen. + 375 mg Neomycin	~60 Tage	5 Monate	0,02 IE Pen.	SCHÄLLIBAUM (1986)
2.000.000 IE Benzathin Benzylpen. + 750 mg Neomycin	~42 Tage	96 Tage	./. (Delvotest)	SCHÄLLIBAUM (1986)
400 mg Novobiocin	11- > 60 Tage	negativ (1. Tag)	./. (Delvotest)	OLIVER et al. (1984)
300 mg Benzathin- cephalin	11- > 60 Tage	1 Tag	./. (Delvotest)	OLIVER et al. (1984)

2.4 Pharmakokinetik von Antibiotika-haltigen Trockenstellern

Die in Trockenstellern am häufigsten verwendeten Antibiotika sind Prokain-Penicillin G, Cloxacillin, Oxacillin, Dihydrostreptomycin, Novobiocin, Neomycin und Erythromycin. Dabei enthalten die Trockensteller entweder nur ein Antibiotikum - vereinzelt allerdings zwei verschiedene Salze des Antibiotikums wie Oxacillin-Natrium-Monohydrat und Oxacillin N,N'-Dibenzyl-äthylendiamin-Salz in Stapenor^R retard - oder eine Kombination zweier oder mehrerer Antibiotika.

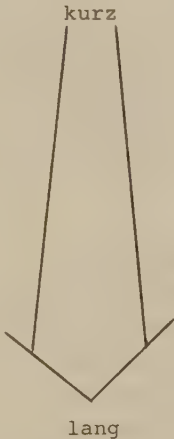
Es ist bekannt, daß die galenische Formulierung eines Trockenstellers einen wesentlichen Einfluß auf die Freisetzung des (der) Wirkstoffes(e) hat. Dabei spielen - ebenso wie bei den Laktationspräparaten (Einzelheiten bei GROSSMAN, 1964) - Löslichkeit des Wirkstoffes wie auch Beschaffenheit der für die Herstellung des Trockenstellers verwendeten Hilfsstoffe (Trägerstoffe) eine wesentliche Rolle. So wird bei einigen Trockenstellern die Tatsache genutzt, daß die kristalline Form einzelner Antibiotika weniger gut löslich ist als die amorphe Form (NEUMAN, 1981; BOURGAT-SACAZE und PETIT, 1983). Von größerer Bedeutung sind jedoch die seit langem bekannten, teilweise erheblichen Unterschiede in der Löslichkeit verschiedener Salze und Ester eines Antibiotikums. Als typisches Beispiel hierfür gilt die im Vergleich zum konventionellen Penicillin G (Benzylpenicillin)-Natrium deutlich verzögerte Wirkstofffreisetzung beim Prokain-Penicillin G, dem klassischen "Depot-Penicillin". Andere Salze und Ester von Penicillin G sind noch schwerer löslich (ZIV et al., 1973a) als Prokain-Penicillin G (s.a. Übersicht 6).

Übersicht 6: Löslichkeit verschiedener Salze oder Ester
von Penicillin G (nach NEUMAN, 1981)

Penicillin G-Salze oder -Ester	Wasserlöslichkeit
Clemizol-Penicillin	sehr gering (0,025 %)
Prokain-Penicillin	gering (0,7 %)
Benzathin-Penicillin G	sehr gering (0,02 %)
Benethamin-Penicillin	sehr gering (0,1 %)
Penethacillin	gering (<1 %)

Ähnliche Verhältnisse liegen z.B. auch bei Oxacillin (leicht lösliches Oxacillin-Natrium-Monohydrat und schwer lösliches Oxacillin N,N'-Dibenzyl-äthylendiamin-Salz) und Cloxacillin (leicht lösliches Natriumcloxacillin und schwer lösliches Benzathincloxacillin) vor. Da die Wirkstoffe des Trockenstellers möglichst lange im Euter in "therapeutisch wirksamen" Konzentrationen vorhanden sein sollen, werden zumeist Antibiotika mit Depotwirkung als ölige Suspensionen oder salbenförmige Zubereitungen, seltener als wässrige Lösungen oder Suspensionen eingesetzt. Es hat sich nämlich gezeigt, daß ein in wässriger Lösung appliziertes Antibiotikum schneller freigesetzt und ausgeschieden wird, als ein solches in öliger Suspension (Übersicht 7). Als Hilfsstoffe für derartige Suspensionen und salbenförmige Zubereitungen werden insbesondere Pflanzenöle (Erdnußöl, Sesamöl), Mineralfette (Paraffin, Vaseline) und Wachse (Wollwachs, Bienenwachs) herangezogen, vereinzelt auch Polyäthylenglykole und Silikon. Aus Trockenstellern

Übersicht 7: Einfluß der Galenik auf die Wirkstoff-
freisetzung (nach BOURGAT-SACAZE und
PETIT, 1983)

Dauer der Wirkstoff- freisetzung	Galenik
	1) wäßrige Lösung
	2) wäßrige Lösung + Verdickungsmittel
	3) wäßrige Suspension
	4) wäßrige Suspension + Verdickungsmittel
	- ölige Lösung
	- ölige Lösung + Verdickungs- mittel
	+ Adsorptions- mittel
	5) ölige Suspension
	6) ölige Suspension + Verdickungs- mittel
	+ Adsorptions- mittel

mit Mineralfetten als Hilfsstoff wird der Wirkstoff offensichtlich langsamer freigesetzt als aus Trockenstellern mit Pflanzenölen als Hilfsstoff (ZIV, 1980; BOURGAT-SACAZE und PETIT, 1983). Dieser Vorgang kann durch Einmischen von Aluminiummonostearat in die ölige Suspension bzw. Salbengrundlage noch erheblich verlängert werden (SMITH et al., 1967a; ZIV et al., 1973a; KAUP, 1975; ZIV, 1975; SCHIPPER et al., 1979; ZIV, 1980; u.a.).

Über die Auswirkung der verschiedenen galenischen Formulierungen auf die Persistenz der Wirkstoffe im Trockensekret wurde bereits in Abschnitt 2.3 ausführlich berichtet (s. Übersicht 2).

SMITH et al. (1967a) sowie ZIV et al. (1973a und b) stellten aufgrund ihrer Experimente die These auf, daß die Verweildauer "therapeutisch wirksamer" Konzentrationen im Trockensekret auch von spezifischen chemisch-physikalischen Eigenschaften der einzelnen Antibiotika und den sich daraus ergebenden Resorptionsraten beeinflusst wird. ZIV und SULMAN (1975) untersuchten dann 39 Antibiotika bezüglich ihrer Resorption im Vergleich zu 2 μCi ^{14}C -Harnstoff (spez. Aktivität 937 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$). Die Präparate wurden nach dem letzten Melken infundiert und die Resorption im Euter im Abstand von 30 Min. überprüft. Die Resorptionsrate wurde berechnet aus dem Verhältnis der Halbwertszeit des betreffenden Antibiotikums zu der Halbwertszeit von ^{14}C -Harnstoff. Eine Kinetik erster Ordnung (einfach exponentiell) charakterisierte die Konzentrationsabnahme von ^{14}C -Harnstoff und den meisten geprüften Antibiotika während der ersten 8 - 12 Std. nach der Behandlung, die Konzentrationsabnahme von einigen Antibiotika, insbesondere Polymyxin B, Colistin, Neomycin, Spiramycin und einigen Tetracyclinen war allerdings biexponentiell (ZIV, 1975). Dabei bestanden erhebliche Unterschiede in den Resorptionsraten der einzelnen Antibiotika (Übersicht 8). Besonders schnell - nach ZIV (1975) viermal schneller als ^{14}C -Harnstoff - wurden Chloramphenicol und Penethacillin resorbiert, extrem langsam Polymyxin B und Colistin. Neben den Polypeptid-Antibiotika wurden auch die Aminoglykosid-Antibiotika viel langsamer resorbiert als die β -Lactam-Antibiotika und Makrolid-

Übersicht 8:

Resorption von Antibiotika durch das trockengestellte Rinderuter und Antibiotika-Bindung an Trockensekret und Eutergewebs-homogenisate (nach ZIV, 1975)

Antibiotikum	relative Resorptionsrate		Antibiotika-Bindung (%)	
	t 1/2 Antibiotikum	Trocken-sekret	Eutergewebs-homogenisate	
	t 1/2 ¹⁴ C-Harnstoff			
Benzylpenicillin	1,65	< 25	< 25	(1,60) ⁺ (< 50) ++
Cloxacillin	1,00	80	25	(0,84) (< 86) (< 50)
Ampicillin	0,65			(0,70) (< 50) (< 50)
Rifamycin SV	3,25			(4,35)
Novobiocin	1,25	85	40	(84) (< 50)
Penethacillin	0,25			(0,48)
Dihydrostreptomycin	6,0-8,0	25	70	(> 8,0) (< 50) (< 75)
Neomycin	6,0-8,0	35	95	(> 8,0) (< 50) (< 92)
Kanamycin	6,0-8,0			(> 8,0)
Erythromycin-Base	2,20	< 25	< 25	(2,2) (< 50) (< 50)
Oleandomycin-Base	2,30			(2,3)
Spiramycin	1,80	32	90	(6,8) (< 50) (< 90)
Polymyxin B, Colistin	> 8,00	60	95	(> 8,0) (< 50) (< 95)
Chloramphenicol	0,25	40	75	(0,25) (< 50) (< 50)
Oxytetracyclin, Tetracyclin, Chlortetracyclin	6,0-8,0			(5,0-8,0)
Phenoxymethylpenicillin				(1,25)
Oxacillin				(0,85)
Cephaloridin				(1,38)
Methicillin				(1,85)

+

(nach ZIV und SULTMAN (1975))

++

(nach ZIV et al. (1976))

Antibiotika. Auch innerhalb einiger Antibiotika-Familien bestanden deutliche Differenzen in der Resorptionsrate. Von den Penicillinen wurde z.B. Penethacillin doppelt so schnell wie Ampicillin und achtmal schneller als Benzylpenicillin resorbiert (ZIV, 1975); bei den Tetracyclinen gab es ähnliche Unterschiede zwischen Minocyclin einerseits und Oxytetracyclin andererseits (ZIV und SULMAN, 1975).

Aus den Ergebnissen wurde gefolgert (ZIV und SULMAN, 1975; ZIV, 1975 und 1980), daß zwei wichtige chemisch-physikalische Faktoren der Antibiotika die Resorption beeinflussen, und zwar die Lipidlöslichkeit der nicht ionisierten Antibiotika und die Dissoziationskonstante. Antibiotika sind meist organische Säuren oder Basen. Der Übertritt schwacher organischer Säuren oder Basen durch biologische Membranen, wie das Euterepithel, erfolgt durch Diffusion in nicht ionisierter Form. Gut lipidlösliche Substanzen können biologische Membranen, die sich wie dünne Lipidschichten verhalten, besser passieren als schlecht lipidlösliche. Da die nicht ionisierte Form im allgemeinen gut lipidlöslich ist, die ionisierte jedoch schlecht lipidlöslich, erfolgt der Übertritt in nicht ionisierter Form (GEDEK, 1979).

ZIV und SULMAN (1975) vermuteten, daß bei einigen Antibiotika auch eine Bindung an Proteine die Resorptionsrate beeinflussen kann. Dies wurde in umfangreichen Versuchen von ZIV (1975) sowie ZIV et al. (1976) bestätigt. Trotz der teilweise etwas differierenden Angaben (s. Übersicht 8) kann davon ausgegangen werden, daß Benzylpenicillin, Ampicillin, Erythromycin, Chloramphenicol und Cephaloridin nur zu einem relativ geringen Prozentsatz von Trockensekret und Eutergewebe gebunden

wurden. Demgegenüber ließ sich bei Dihydrostreptomycin, Neomycin, Spiramycin und Polymyxin B eine relativ starke Bindung seitens des Eutergewebes, bei Cloxacillin, Novobiocin und Phenoxymethylpenicillin eine solche seitens des Trockensekretes - dessen Proteine zu etwa zwei Dritteln aus Albuminen bestehen (ZIV et al., 1976) - erkennen. ZIV et al. (1976) machten darauf aufmerksam, daß die aufgrund der Proteinbindung gemessene Abnahme der antibiotischen Aktivität in vitro kein Maß für die Aktivität in vivo ist. Es besteht nämlich ein Gleichgewicht zwischen gebundenem und ungebundenem Antibiotikum, so daß bei Abnahme der ungebundenen Fraktion durch Diffusion auch die Konzentration des gebundenen Wirkstoffs abnimmt. Aus diesem Grund kann die Bindung auch die Funktion eines physiologischen Antibiotika-Depots übernehmen (ZIV, 1975). Das Bindungsvermögen zum Gewebeeiweiß ist kein fester Parameter oder absoluter Wert, weil bei hoher Wirkstoffkonzentration im Euter (z.B. direkt nach der Behandlung) der Anteil des gebundenen Wirkstoffs in den meisten Fällen sehr gering ist, da die Bindungsstellen des Eiweißes gesättigt sind. Aus diesem Grund ist die Resorption des Antibiotikums direkt nach der Behandlung sehr schnell. Die Resorptionsrate nimmt dann aber ab, und zwar umgekehrt proportional zur Affinität des Gewebes zum jeweiligen Antibiotikum (ZIV, 1975). Außerdem wird die Resorptionsrate dadurch verlangsamt, daß der Anteil des Antibiotika-bindenden nicht sekretorischen Eutergewebes während der Involution zunimmt (GOLDSTEIN, 1949).

Die anlässlich des Trockenstellens applizierten Antibiotika werden nach ihrer Resorption und Verteilung im Körper meistens über die Niere ausgeschieden. So

stellten GEDEK und TERPLAN (1974) fest, daß nach Verabreichung eines Oxacillin- bzw. Cloxacillin-Trockenzeitpräparates etwa 4 Wochen post appl. mit beachtlichen Wirkstofftitern im Harn gerechnet werden muß, d.h. eine Frist, die fast mit der Dauer des Vorhandenseins von therapeutisch wirksamen Konzentrationen dieser Isoxazolyl-Penicilline im Trockensekret übereinstimmt (SMITH et al., 1967a; SCHMID et al., 1973). HAMANN und HEESCHEN (1983) beobachteten allerdings bei dem gleichen Oxacillin-Trockenzeitpräparat nur Ausscheidungszeiten von maximal 2 Wochen, wiesen jedoch gleichzeitig wie zuvor GEDEK und TERPLAN (1974) auf deutliche individuelle Unterschiede hin. Nach PFEIFFER (1975) ergab sich, verglichen mit den Harnspiegeln von Penicillin-Präparaten in der Laktation, in der Trockenzeit eine beachtlich verzögerte Ausscheidung des Penicillins (maximal 20 Tage). Schließlich registrierten GEDEK et al. (1976) bei mit zwei Kombinationspräparaten (Wirkstoffe: Prokain-Penicillin G und Dihydrostreptomycin) trockengestellten Kühen im Harn etwa 5 Wochen lang Rückstände.

2.5 Rechtliche Beurteilung von Antibiotikarückständen in Milch

Beim Nachweis von Antibiotikarückständen in Milch richtet sich die Beurteilung nach lebensmittelrechtlichen und im Falle der den Molkereien angelieferten Rohmilch auch nach marktwirtschaftlichen Regelungen. Unter den lebensmittelrechtlichen Vorschriften kommt dem Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz (LMBG) die entscheidende Bedeutung zu. Da Antibiotika zu den Stoffen mit pharmakologischer Wirkung gehören, ist beim Vorhandensein von Rückständen die Vorschrift des § 15 LMBG heranzuziehen. Gemäß § 15 Abs. 1 LMBG ist es verboten, "vom Tier gewonnene Lebensmittel gewerbsmäßig in den Verkehr zu bringen, wenn in oder auf ihnen Stoffe mit pharmakologischer Wirkung oder deren Umwandlungsprodukte vorhanden sind, die nach Abs. 3 Nr. 1 Buchstabe a festgesetzte Höchstmengen überschreiten". Dieses Verbot war etwa 10 Jahre lang nicht wirksam, da keine Höchstmengenregelung erlassen wurde. Mit der Änderung der aufgrund des § 15 Abs. 3 Nr. 1 Buchstaben a, b und c erlassenen Verordnung über Stoffe mit pharmakologischer Wirkung vom 5.4.1984 (BGBl. I S. 597) und der damit verbundenen Einführung einer Höchstmenge von 1 ppb Chloramphenicol in Milch und Milcherzeugnissen sowie Eiern und Eiprodukten (Anlage 2 zu § 3a) wurde kürzlich der erste Schritt in Richtung einer solchen Höchstmengenregelung getan. Für andere Lebensmittel tierischen Ursprungs, wie z.B. Muskelfleisch, sind bislang allerdings noch keine Höchstmengen für Chloramphenicol festgelegt worden. Die für Milch und Milcherzeugnisse geltende Höchstmenge wurde anhand der Nachweisgrenze empfindlicher analytischer Bestimmungsmethoden für Chloramphenicol festgesetzt und entspricht

Somit einer Nulltoleranz (LÜSCHER et al., 1985). In Übereinstimmung hiermit darf Chloramphenicol gemäß § 1 (Anlage 1) der Verordnung über Stoffe mit pharmakologischer Wirkung nicht bei Pferden, Rindern, Schafen oder Ziegen, die der Milchgewinnung dienen, während der Laktation und zwischen den Laktationsperioden angewendet werden.

Beim Nachweis eines anderen der zur Anwendung bei Milchtieren zugelassenen Antibiotikums gilt die Vorschrift von § 15 Absatz 2 LMBG, daß Rückstände nur dann beanstandet werden können, wenn der Nachweis erbracht wird, daß die bei der Registrierung oder Zulassung festgesetzte Wartezeit nicht beachtet worden ist. Gemäß § 4 Absatz 12 des Arzneimittelgesetzes ist Wartezeit definiert als "... die Zeit, innerhalb der bei bestimmungsgemäßer Anwendung von Arzneimitteln bei Tieren mit Rückständen nach Art und Menge gesundheitlich nicht unbedenklicher Stoffe in den Lebensmitteln gerechnet werden muß, die von den behandelten Tieren gewonnen werden, einschließlich einer angemessenen Sicherheitsspanne". Dies bedeutet, daß nach Ablauf der Wartezeit keine absolute Rückstandsfreiheit verlangt wird, sondern ein nach der Nutzen-Risiko-Abwägung vertretbarer Rückstand toleriert werden kann (SOMOGYI, 1982; SCHULZE, 1983; GEDEK, 1984; SANTARIUS, 1985). Dies ist auch insofern sinnvoll, als der Anspruch nach absoluter Rückstandsfreiheit nur dann zu erfüllen wäre, wenn auf jede Behandlung mit Arzneimitteln verzichtet würde, da geringste, sich heute noch jedem Nachweis entziehende Spuren lebenslang im Körper der behandelten Tiere bleiben bzw. ausgeschieden werden (ARNOLD, 1983; SCHULZE, 1986). Bei Anwesenheit von Antibiotikarückständen in Milch kann somit nicht ohne weiteres auf das Vorliegen nach Art und Menge gesundheitlich bedenklicher Stoffe

bzw. eine Mißachtung der Wartezeitregelung nach § 15 Absatz 2 LMBG geschlossen werden. Die Problematik der lebensmittelrechtlichen Beurteilung hemmstoffpositiver Befunde wird auch aus einem Urteil des Bayerischen Obersten Landesgerichtes vom 5.5.1981 ersichtlich. Bei Vorhandensein von Stoffen mit pharmakologischer Wirkung in oder auf Lebensmitteln sind demzufolge für den Nachweis eines Verstoßes gegen § 15 Absatz 2 LMBG in der Regel Feststellungen erforderlich, "ob es sich bei den dem lebenden Tier zugeführten Stoffen mit pharmakologischer Wirkung um zugelassene oder registrierte Präparate gehandelt hat und welche Wartezeiten dafür festgesetzt sind". Um aber feststellen zu können, ob das dem Tier verabreichte Präparat zugelassen ist, müßten dessen Inhaltsstoffe spezifiziert werden. Unspezifische Untersuchungsmethoden wie der Hemmstofftest scheiden dafür aus. Aber auch neuere Verfahren wie Gaschromatographie/Massenspektrometrie oder HPLC, mit deren Hilfe man pharmakologisch wirksame Stoffe identifizieren und quantifizieren kann, lassen weder den Rückschluß auf das benutzte Präparat noch auf die für dieses Präparat vorgesehene Wartezeit zu. Dies ist u.a. dadurch bedingt, daß ein und derselbe pharmakologisch wirksame Stoff in verschiedenen Zubereitungsformen (Pulver, Bolus, ölig, wäßrig) enthalten und mit anderen Stoffen kombiniert sein kann und andererseits aus unterschiedlicher Applikationsweise verschiedene Wartezeiten resultieren (SCHULZE, 1984; SANTARIUS, 1985).

Das Amtsgericht Cham hat in seinem Urteil vom 1.10.1982 einen Verstoß gegen § 15 Absatz 2 LMBG auch deswegen verneint, weil die Feststellung nicht identifizierter Hemmstoffe in der Milch "noch nicht zwingend den Schluß zuläßt, daß der Betroffene Hemmstoffe angewendet oder zugeführt habe". Schließlich weist das Landgericht

Traunstein in seinem auf die Entscheidung des Bayerischen Obersten Landesgerichtes gestützten Urteil vom 25.1.1984 ebenfalls darauf hin, daß es keine Verfahren gibt, durch die man mittels Untersuchung von Lebensmitteln das konkret verwendete Arzneimittel und die dafür geltende Wartezeit ermitteln kann, und daß das Gesetz in der geltenden Fassung nicht vollziehbar ist und damit leerläuft. Dies kann zur Folge haben, daß "verbraucherschädliches Verhalten gewinnorientierter gewerblicher Betreiber ungeahndet bleiben muß" (Landgericht Traunstein), sofern nicht mittels anderer Beweismittel belegt werden kann, daß das Lebensmittel innerhalb der Wartezeit gewonnen wurde. Zur Lösung dieses Problems wird von verschiedenen Autoren (ARNOLD, 1983; SCHULZE, 1983, 1984 und 1986; GEDEK, 1984 und 1986; SCHLATTERER, 1984; SANTARIUS, 1985) vorgeschlagen, die Wartezeitenregelung durch entsprechende Festsetzungen von Höchstmengen an Arzneimittelrückständen in oder auf Lebensmitteln zu ergänzen. Hierfür kommen z.B. die vom BUNDESGESUNDHEITSAMT (1984) für Rückstandsnachweisverfahren genannten Nachweisgrenzen (Übersicht 9) in Frage, die zum größten Teil den Konzentrationen entsprechen, die Grundlage für die vom Bundesgesundheitsamt festgesetzten Wartezeiten sind (SANTARIUS, 1985). Als Folge einer solchen Regelung könnten dann alle Lebensmittel, die über die zulässige Höchstmenge hinaus mit Antibiotikarückständen belastet sind, unabhängig von der Feststellung der Wartezeit gemäßregelt werden.

Für die Beurteilung von Antibiotikarückständen in Anlieferungsmilch sind auch die marktwirtschaftlichen Regelungen in Form der bundeseinheitlichen Milch-Güteverordnung und der dazu erlassenen Ausführungsverordnungen der Bundesländer von Bedeutung. Die Anlieferungsmilch ist entsprechend diesen Vorschriften

monatlich zweimal auf die Anwesenheit von Hemmstoffen zu untersuchen, wobei der Agar-Diffusionstest bzw. der Brillantschwarz-Reduktionstest mit *Bac. stearothermophilus* var. *calidolactis* als Testkeim vorgeschrieben sind. Werden bei diesen Untersuchungen Hemmstoffe festgestellt, so ist gemäß § 4 Absatz 3 der Milch-Güteverordnung der Auszahlungspreis im Monat der Feststellung um mindestens 6 Pf/kg zu kürzen.

Eine Identifizierung des Hemmstoffes ist hierfür nicht erforderlich. Dennoch ist der Nutzen einer Identifizierung des nachgewiesenen Hemmstoffes nicht von der Hand zu weisen, um einmal die Ursache der Kontamination besser zu erkennen und zum anderen dem Milcherzeuger, der keine Möglichkeit zur Gegenprobenuntersuchung hat, ein zusätzliches Maß an Informationen und Sicherheit zu geben (GEDEK, 1984).

Übersicht 9: Vom Bundesgesundheitsamt (1984) geforderte
Nachweisgrenzen von Rückstandsnachweis-
verfahren (Auszug)

Stoffe bzw. deren Salze	Nachweisgrenze
1. Chloramphenicol	1 µg/kg
2. Nitrofurane	1 µg/kg
5. β-Lactamantibiotika	
Ampicillin	10 µg/kg
Amoxicillin	10 µg/kg
Oxacillin	10 µg/kg
Cloxacillin	10 µg/kg
Dicloxacillin	10 µg/kg
Benzylpenicillin	0,005 I.E./g
Prokain-Benzylpenicillin	0,005 I.E./g
6. Aminoglycosidantibiotika:	
Streptomycin	200 µg/kg
Dihydrostreptomycin	200 µg/kg
Neomycin	200 µg/kg
Kanamycin	200 µg/kg
Gentamycin	200 µg/kg
7. Tetracycline	10 µg/kg
8. Makrolidantibiotika:	
Erythromycin	15 µg/kg
Tylosin	50 µg/kg
9. Polypeptidantibiotika:	
Polymyxin B	100 µg/kg
14. Sulfonamide	100 µg/kg
15. Trimethoprim	50 µg/kg

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Material

3.1.1 Trockensteller

Bei dem in der vorliegenden Arbeit geprüften Präparat handelt es sich um ein speziell für die Anwendung in der Laktationspause entwickeltes und unter dem Namen Stapenor^R retard von der Firma Bayer AG vertriebenes Produkt. Das therapeutisch wirksame Prinzip dieses Trockenstellers ist das von DOYLE et al. (1961) entwickelte und üblicherweise als Oxacillin bezeichnete (AUHAGEN et al., 1962) halbsynthetische Langzeitantibiotikum 6-(5-Methyl-3-phenyl-4-isoxazolcarboxamido)penicillinsäure (GLASBY, 1979).

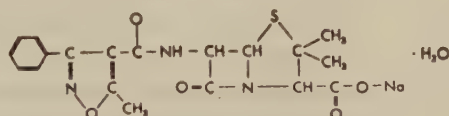
Ein Injektor enthält in 7,5 g neutraler Salbengrundlage (nach Auskunft der Fa. Bayer aus dickflüssigem Paraffin, Aluminium-Monostearat und Stearinsäure PLV bestehend) 219,9 mg Oxacillin-Natrium-Monohydrat - entsprechend 200 mg Oxacillin - und 1039,5 mg Oxacillin N,N-Dibenzyl-äthylendiamin-Salz (2:1) - entsprechend 800 mg Oxacillin - (Bayer Produktinformation 1986). Angaben zu Summenformel, Strukturformel, Molekulargewicht und Wasserlöslichkeit der beiden Substanzen können Tabelle 1 und Abbildung 1 entnommen werden:

Tabelle 1: Summenformel, Molekulargewicht und Wasserlöslichkeit von Oxacillin-Natrium-Monohydrat sowie Oxacillin, N,N-Dibenzyl-äthylendiamin-Salz (NND-Oxacillin)

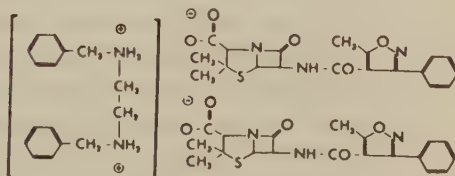
Substanz	Summenformel	Molekulargewicht	Wasserlöslichkeit
Oxacillin-Na-Monohydrat	$C_{19}H_{18}N_3O_5S \text{ Na} \cdot H_2O$	441,4	leicht
NND-Oxacillin	$(C_{19}H_{18}N_3O_5S)_2 \cdot C_{16}H_{22}N_2$	1043,2	sehr schwer löslich

Abbildung 1: Konstitution von Oxacillin-Natrium-Monohydrat sowie NND-Oxacillin

OXACILLIN-NATRIUM-MONOHYDRAT



OXACILLIN, N,N-DIBENZYL-ÄTHYLENDIAMIN-SALZ (2:1)



Durch den Anteil des leicht löslichen Oxacillin-Na erreichen die Initialspiegel schnell hohe Werte, die in Verbindung mit dem schwer löslichen NND-Oxacillin für etwa 6 Wochen therapeutische Konzentrationen über 1 µg/ml gewährleisten. Die Konzentrationen der beiden Oxacillin-

Salze und das Vehikel sollen bezüglich Wirkstoffspiegel, Verweildauer, Verteilung, Resorption und Verträglichkeit optimal sein (Bayer Produktionformation 1986). Wenn die Behandlung mindestens 35 Tage vor der Geburt erfolgt, so ist die Wartezeit für Milch fünf Tage post partum. Geschieht das antibiotische Trockenstellen weniger als 35 Tage vor dem Kalben, so beträgt die Wartezeit für Milch 40 Tage ab Behandlung. Die Wartezeit für eßbare Gewebe wurde mit 21 Tagen, die für Eutergewebe mit 40 Tagen festgesetzt.

3.1.2 Versuchstiere

Für die Versuche wurden von März 1984 bis Januar 1985 insgesamt 164 Kühe in 58 Betrieben einer Großtierpraxis auf der Schwäbischen Alb mit Oxacillin trockengestellt (s. Abschnitt 3.2.1). In diesen Betrieben standen zwischen 4 und 40 Milchkühe (s. Tabelle 2), die mit der Melkmaschine gemolken wurden. Etwa 70 % der 4 - 10 Jahre alten Tiere waren Fleckviehkühe und etwa 30 % Deutsche Schwarzbunte. Alle Tiere zeigten ein ungestörtes Allgemeinbefinden und gaben vor dem Trockenstellen zwischen 3 und 15 l Milch/Tag. Die adspektorische und palpatorische Untersuchung des Euters ergab keinerlei Hinweise auf das Vorliegen von entzündlichen Veränderungen.

Tabelle 2: Bestandsgrößen

Anzahl der Milchkühe	Anzahl der Bestände
bis 9	9
10 - 19	12
20 - 29	24
> 29	13
Anzahl der Bestände insgesamt:	58

3.2 Methodik

Den Experimenten lag folgende Anordnung zugrunde:

1. Vor dem Trockenstellen zyto-bakteriologische und rückstandsanalytische (Hemmstoffe) Prüfung von Viertelgemelksproben
2. Trockenstellen mit Oxacillin
3. In der nachfolgenden Laktation bakteriologische Untersuchung von Viertelgemelksproben und Nachweis von Antibiotikarückständen in Viertel- sowie Gesamtgemelken der trockengestellten Kühe und in der Sammelmilch der entsprechenden Bestände.

3.2.1 Applikation des Trockenstellers

Nach Durchführung des Schalm-Mastitis-Tests (siehe Abschnitt 3.2.5.1) und Entnahme von Viertelgemelksproben (siehe Abschnitt 3.2.2) wurde das Euter des für die Versuche ausgewählten Tieres gründlich ausgemolken. Im Anschluß an eine sorgfältige Reinigung und Desinfektion der Zitzenkuppen wurde in jedes Euterviertel der Inhalt eines Injektors eingebracht. Im Hinblick auf die vom Hersteller des Präparates angegebene Wartezeit wurden die Injektoren zumindest 6 Wochen vor dem errechneten Abkalbetermin eingesetzt. Eine zusätzliche antibiotische Vor- oder Nachbehandlung fand nicht statt.

3.2.2 Probeentnahme

Vor dem Trockenstellen wurden nur Viertelgemelksproben entnommen, am 6. Tag nach Laktationsbeginn außerdem Gesamtgemelks- und Bestandsmilchproben. Sofern in den Milchproben vom 6. Tag nach dem Abkalben Hemmstoffe nachweisbar waren, wurden weiterhin Proben gezogen, bis alle Viertelgemelksproben sich als hemmstofffrei erwiesen. Dies geschah eine Woche lang täglich, danach im Abstand von 3 - 7 Tagen. Die Entnahme der Viertelgemelksproben erfolgte im Hinblick auf die bakteriologische Untersuchung unter aseptischen Kautelen in Anlehnung an das von der DVG (1980) beschriebene Referenzverfahren. Für die Untersuchung auf Oxacillin-Rückstände wurden zuerst neben den Anfangsgemelksproben auch Endgemelke gewonnen, später ausschließlich Viertelendgemelke. Die Entnahme von Gesamtgemelk und Bestandsmilch (ca. 10 ml) erfolgte mit einem sterilisierten Schöpfer. Die unkonservierten Milchproben wurden sofort auf 4 °C abgekühlt und innerhalb von 10 Stunden untersucht.

3.2.3 Nachweis von Hemmstoffen

Für den Nachweis von Hemmstoffen wurden der Agar-Diffusionstest mit *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* C 953 als Testkeim und der Brillantschwarz-Reduktionstest eingesetzt. Geprüft wurden vor dem Trockenstellen stichprobenweise Viertelgemelksproben, ab dem 6. Tag nach Laktationsbeginn Viertelgemelke, Gesamtgemelke und Bestandsmilchproben.

3.2.3.1 Agar-Diffusionstest

Die Durchführung des Agar-Diffusionstests erfolgte in Anlehnung an die Deutsche Norm DIN 10 182 Teil 3 (1983) bzw. die in die amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren aufgenommene Methode L 01.00-18 (BGA, 1984). Als Nachweismedium diente Plate-Count-Agar (OXOID, CM 325), von dem 40 Teile mit 2 Teilen der o.a. Gebrauchskultur bei ca. 55 °C vermischt wurden. Dieses Testmedium wurde in Petrischalen so ausgegossen, daß die Schichtdicke 3,5 mm betrug. Entsprechend der amtlichen Methode L 01.00-6 (BGA, 1980) bzw. der Deutschen Norm DIN 10 182 Teil 1 (1981) wurden Blättchen aus Filterpapier mit einem Durchmesser von 12,7 mm (Schleicher und Schüll Nr. 2668/2) mit den zu untersuchenden Proben getränkt und auf das Testmedium aufgelegt. Die Platten wurden etwa 5 Std. bei 55 °C bebrütet und danach auf die Anwesenheit klarer Hemmzonen um die Blättchen untersucht. Die Breite von Hemmzonen um Proben bzw. um die Oxacillin-Kontrolle wurde mittels Schublehre gemessen.

Alle Hemmstoff-positiven Proben wurden anschließend bei -20 °C eingefroren und gelagert. Zur Abgrenzung unspezifischer Reaktionen wurden die bei etwa 45 °C im Wasserbad aufgetauten Proben erneut im Agar-Diffusionstest geprüft, nachdem sie vorher 10 Min. bei 80 °C im Wasserbad erhitzt bzw. mit Penicillinase (Bacto-Penase) versetzt worden waren. Abweichend von der amtlichen Methode L 01.00-6 wurde für die Inaktivierung von Oxacillin eine Endkonzentration von 40.000 E Penase/ml gewählt. Der Nachweis spezifischer Oxacillin-Rückstände wurde nur bei den Proben als gegeben angesehen, bei denen nach Penase-Zusatz keine Hemmzone mehr beobachtet werden konnte.

Zur Feststellung der Nachweisgrenzen des Agar-Diffusionstests für Oxacillin und zur Abschätzung der in den Oxacillin-positiven Milchproben vorhandenen Konzentrationen wurde eine Eichkurve aufgestellt. Zu diesem Zweck wurden mehrere Verdünnungsreihen mit bekannter Oxacillinkonzentration in 1 %igem Phosphatpuffer, pH 6,0 (ARRET et al., 1971) sowie in hemmstofffreier Vollmilch hergestellt und im Agar-Diffusionstest in der beschriebenen Weise angesetzt.

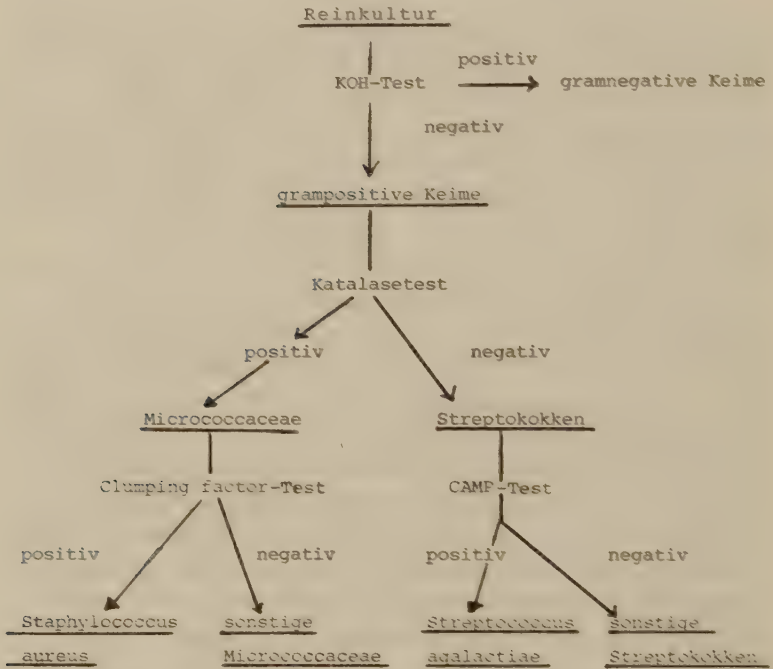
3.2.3.2 Brillantschwarz-Reduktionstest

Für die Durchführung des Brillantschwarz-Reduktionstests (BRT) wurden gebrauchsfertige Tabletts mit den dazugehörigen Kontrollen freundlicherweise von der Landesvereinigung der Bayerischen Milchwirtschaft zur Verfügung gestellt. Die Beschickung der BRT-Tabletts, Inkubation und Auswertung erfolgten gemäß der Deutschen Norm DIN 10 182 Teil 2 (1982) bzw. der amtlichen Methode L 01.00-11 (BGA, 1982).

3.2.4 Nachweis von Mastitis-Erregern

Für die Isolierung von Mastitis-Erregern in den vor dem Trockenstellen bzw. am 6. Tag nach Laktationsbeginn gewonnenen Viertelgemelken wurden Blutagarplatten eingesetzt. Für die Herstellung dieser Platten wurden dem Grundnährboden (Columbia Agar Basis; OXOID, CM 331) 6 % gewaschene Rindererythrozyten (DVG, 1980) und zur besseren Unterscheidung der Mastitisstreptokokken außerdem 0,1 % Äsculin (Merck, 848) zugegeben. Von den kräftig durchmischten Milchproben wurden mit einer standardisierten Platinöse jeweils 0,02 ml ausgestrichen (4 Viertelgemelke pro Platte). Die Platten wurden 48 Std. bei 37 °C bebrütet. Entsprechend der Anzahl von Kolonien pro Ausstrich wurde zwischen vereinzeltem Keimwachstum (bis zu 5 Kolonien) und starkem Keimwachstum (über 5 Kolonien) unterschieden. Bei Ausstrichen mit über 5 Kolonien wurden letztere, sofern der Verdacht bestand, daß es sich um Mastitis-Erreger handelt, anschließend einer groben Differenzierung entsprechend dem in Abbildung 2 wiedergegebenen Schema unterzogen.

Abbildung 2: Schema der Grobdiffenzierung von aus Viertelgemelksproben isolierten Keimen



Gramnegative Keime wurden von den grampositiven Keimen mit Hilfe des KOH-Tests (GREGERSEN, 1978) abgegrenzt. Dazu wurde etwas Material der zu untersuchenden Kolonie in einem Tropfen 3 %iger KOH-Lösung verrieben (5-10 sec.). Folgte bei Abheben der Öse ein schleimiger, haftender Faden, sprach dies für eine gramnegative Keimart. In diesem Falle wurden keine weiteren Untersuchungen mehr durchgeführt.

Bei grampositiven Keimen (negative Reaktion im KOH-Test) wurde auf eine Differenzierung zwischen Stäbchen und Kokken verzichtet, da bei subklinischen Mastitiden grampositive Stäbchen nur selten isoliert werden und im Übrigen aufgrund ihrer Kolonienformen (z.B. *Bacillus*-arten, *Corynebacterium pyogenes*) ausgeschlossen werden können. Es wurde vielmehr - sofern überhaupt erforderlich - die Katalasereaktion zur Differenzierung zwischen Streptokokken und Micrococcaceae herangezogen. Zu diesem Zweck wurde die zu testende Kolonie auf einem Objektträger mit einigen Tropfen einer 3 %-igen H_2O_2 -Lösung verrieben. Bei einer für Micrococcaceae sprechenden positiven Reaktion (Schaumbildung) schloß sich ebenso wie bei aufgrund von Kolonienformen und typischen Hämolysezonen (DVG, 1980) verdächtigen und daher nicht im Katalase-Test geprüften Kolonien eine Untersuchung im sog. Clumping factor-Test (DVG, 1980) an. Hierfür wurde entsprechend den Angaben der DVG Zitratplasma vom Kaninchen oder Schwein verwendet, das auf einem Objektträger mit einer Öse voll Bakterienmaterial vermischt wurde. Zur Ausschaltung von Spontanagglutinationen lief eine Kontrolle mit physiologischer Kochsalzlösung (statt Plasma) mit. Bei positivem Ausfall des Tests (Verklumpung) wurden die Keime der Spezies *Staphylococcus aureus* zugeordnet, während alle anderen katalasepositiven Keime als sonstige Micrococcaceae (koagulasenegative Staphylokokken, Mikrokokken) zusammengefaßt wurden.

Sofern bei den grampositiven Keimen aufgrund des Erscheinungsbildes (z.B. kleine äsculinnegative Kolonien) und des fehlenden Katalasebildungsvermögens der Verdacht nahelag, daß es sich um *Streptococcus* (Sc.) *agalactiae* handelt, wurden diese im sog. CAMP-Test (CHRISTIE,

ATKINS und MUNCH-PETERSEN, 1944) geprüft. Für diesen Zweck dienten Blutagarplatten aus D.S.T.-Agar-Basis (OXOID, CM 261) mit 6 % gewaschenen Rindererythrozyten und 0,1 % Äsculin. Der CAMP-Test, der in Deutschland erstmals von SEELEMANN und OBIGER (1956) beschrieben worden war, wurde in Anlehnung an die von der DVG (1980) festgelegte bzw. die demnächst im Rahmen der amtlichen Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG vorgeschriebene Methodik durchgeführt. Bei Vorliegen des CAMP-Phänomens (schalen-, halbmond- oder trichterförmige Hämolyse im Bereich der β -Toxin-Zone des als Indikator eingesetzten *Staphylococcus aureus*-Stammes) galt dies als Beweis für *Sc. agalactiae*. Alle im CAMP-Test negativen Streptokokken wurden ebenso wie dem CAMP-Test nicht unterworfenen, grampositive, katalasenegative Keime als sonstige Streptokokken bezeichnet.

3.2.5 Zytologische Untersuchungen

Zur Bestimmung des Milchzellgehaltes vor dem Trocknen wurde der Schalm-Mastitis-Test (SCHALM, 1960) unmittelbar am Tier durchgeführt. Bei positivem Ausfall dieses Tests wurden die Sedimente der Viertelgemelke mit dem Kieler-Ausstrichverfahren untersucht.

3.2.5.1 Schalm-Mastitis-Test

Nachdem die Euter der Kühe angerüstet und gereinigt waren, wurden die ersten Milchstrahlen jedes Viertels in eine Schalmtestschale gemolken und der Zellgehalt der Viertelgemelksproben mit dem Schalmtest^R (IFFA MERIEUX) bestimmt. Die Beurteilung der Mischung von Milch und Reagenz wurde entsprechend dem von der Lieferfirma beigelegten, dem Originalschlüssel von SCHALM (1960) entsprechenden Schema vorgenommen (s. Tabelle 3).

Tabelle 3: Beurteilungsschlüssel für den Schalm-Mastitis-Test

Reaktion	Konsistenz	ungefährer Zellgehalt pro ml
-	unverändert	0 - 200 000
+	zarte Schlieren	150 000 - 550 000
+	schlierig, aber nicht ausgeprägt schleimig	400 000 - 1 500 000
++	deutliche Schleim- bildung, aber Mischung fließt noch	800 000 - 5 000 000
+++	starke, zähschleimige bis gallertige Ver- änderung	meist über 5 000 000

3.2.5.2 Kieler Ausstrichverfahren

Das auf SEELMANN (1928) zurückgehende Kieler Ausstrichverfahren wurde in der von der METHODENKOMMISSION (1960) beschriebenen Art durchgeführt. Zur Gewinnung des hierfür notwendigen Sediments wurden die mit den Viertelgemelksproben gefüllten Reagenzgläser bei ca. 3000 Umdrehungen/min. 10 Minuten lang zentrifugiert. Nach Entfernen der Rahmschicht und vorsichtigem Dekantieren der Magermilch wurde mit einer Öse ($\varnothing$ 2 mm) vorsichtig etwas von dem Sediment entnommen, auf einen entfetteten Objektträger verbracht und nach Vermischen mit einem Tropfen Wasser so ausgestrichen, daß eine ovale Fläche von ca. 3 cm^2 bedeckt war. Nach Lufttrocknung wurde das Präparat hitzefixiert und in einer 0,5 %igen, wäßrigen Methylenblaulösung 5 Minuten gefärbt. Der Ausstrich wurde mittels Ölimmersion nach Art und Menge der Zellen sowie Phagozytose von Keimen beurteilt, indem 10 Gesichtsfelder durchmustert wurden. Die Auswertung erfolgte in Anlehnung an das von OBIGER (1962) beschriebene Schema (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4: Auswertung des Sedimentausstrichs
(Kieler Ausstrichverfahren)

optischer Befund		Zellgehalt
1 - 5 Zellen/Gesichtsfeld	=	normaler Zellgehalt
> 5 Zellen/Gesichtsfeld	=	erhöhter Zellgehalt
Zellen unzählbar, größere Zellanhäufungen, Zellkonglomerate	=	Sekretionsstörungen, mikroskopisch nachweisbarer Eiter

4 ERGEBNISSE

Von den 164 trockengestellten Kühen konnten 13 nicht in die Auswertung einbezogen werden, weil sie zwischenzeitlich abgegangen waren (7 Tiere), wegen schwerer Mastitis oder Zitzenverletzungen antibiotisch behandelt worden waren (3 Tiere) bzw. die Abkalbung vor dem errechneten Termin erfolgte, ohne daß seitens des Besitzers hierauf hingewiesen wurde (3 Tiere). Bei 144 (95,4 %) der verbleibenden 151 Kühe betrug die Trockenperiode zwischen 35 und 140 Tage (Tabelle 5), etwa drei Viertel (74,9 %) aller Kühe wiesen sogar eine Trockenperiode von mehr als 50 Tagen auf; 7 Kühe (4,6 %) kalbten früher als erwartet ab (23, 24, 25, 29, 30, 31 bzw. 34 Tage nach Behandlung) und standen somit weniger als 35 Tage trocken.

Tabelle 5: Trockenperiode der in die Auswertung einbezogenen 151 Kühe

Trockenperiode (in Tagen)	Anzahl (Anteil) der Kühe
20 - 24	2 (1,3 %)
26 - 29	2 (1,3 %)
30 - 34	3 (2,0 %)
35 - 39	2 (1,3 %)
40 - 49	29 (19,2 %)
50 - 59	55 (36,4 %)
60 - 69	41 (27,2 %)
70 - 79	10 (6,6 %)
80 - 140	7 (4,7 %)
insgesamt:	151 (100 %)

4.1 Nachweis von Hemmstoffen

Während vor dem Trockenstellen nur stichprobenweise Viertelgemelksproben untersucht wurden, wurden bei den trockengestellten Kühen nach Ablauf der Wartezeit (= 6. Tag nach Laktationsbeginn bzw. 41. Tag nach dem Trockenstellen) Viertel- und Gesamtgemelke entnommen und ebenso wie Bestandsmilchproben aus den jeweiligen Betrieben auf die Anwesenheit von Hemmstoffen geprüft.

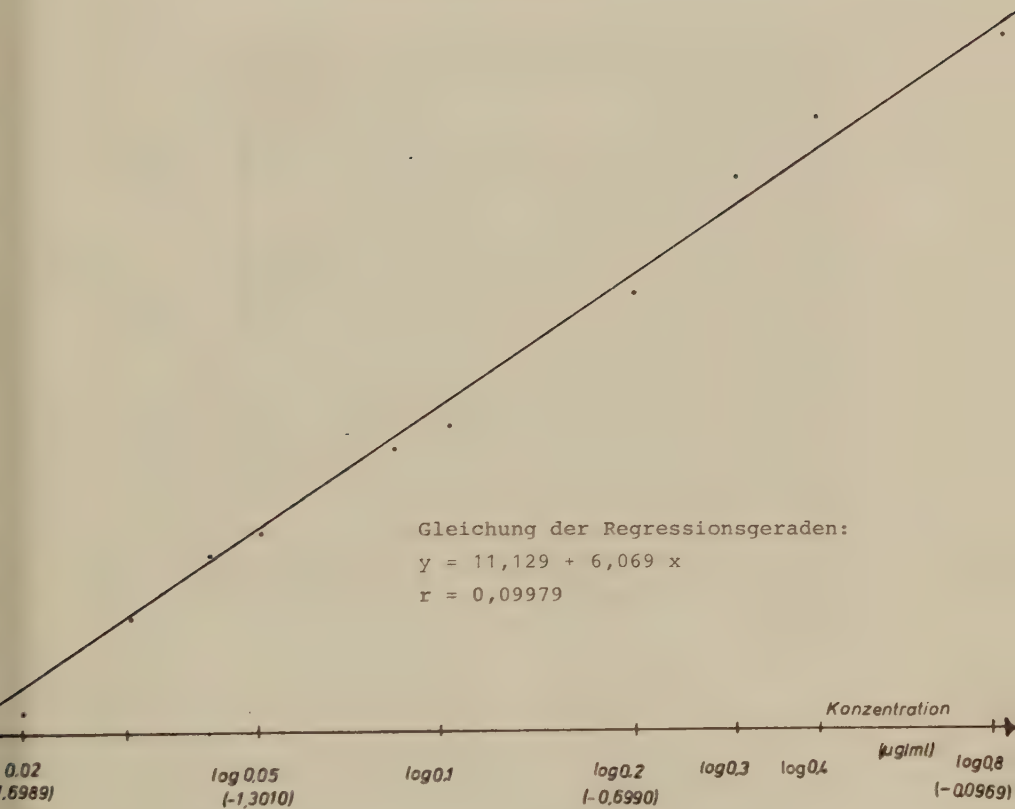
4.1.1 Agar-Diffusionstest

In den Modellversuchen mit in 1 %igem Phosphatpuffer (ARRET et al., 1971) gelöstem und in hemmstofffreier Vollmilch verdünntem Oxacillin-Natrium (Bayer) ließen sich im Agar-Diffusionstest 0,02 µg Oxacillin/ml sicher nachweisen.

Zur Erstellung der für die quantitative Bestimmung der Rückstände erforderlichen Eichkurve wurden die Mittelwerte der Hemmhofdurchmesser von jeweils 9 Ansätzen im Konzentrationsbereich von 0,8 bis 0,02 µg Oxacillin/ml Milch ermittelt und die Regressionsgerade nach logarithmischer Transformation der Oxacillin-Konzentrationen berechnet. Die sich ergebende Eichkurve ist in Abbildung 3 semilogarithmisch dargestellt.

Abb. 3: Oxacillin - Eichkurve

emmzone (mm)



4.1.1.1 Häufigkeit hemmstoffpositiver Befunde

Von den vor dem Trockenstellen stichprobenweise entnommenen 63 Viertelgemelksproben waren 18 (28,6 %) hemmstoffhaltig.

Am ersten Tag nach Ablauf der vom Hersteller angegebenen Wartezeit (bei 144 Kühen am 6. Tag nach dem Abkalben, bei 7 Kühen am 41. Tag nach der Behandlung) erwiesen sich Viertelgemelke (Endgemelke) von 61 Kühen (40,4 %) bzw. Gesamtgemelke von 27 Kühen (17,9 %) als hemmstoffpositiv (Tabelle 6). Hemmstoffpositive Gesamtgemelke wurden letztmalig am 14. Tag nach Ablauf der Wartezeit registriert, hemmstoffpositive Viertelgemelke noch etwa zwei weitere Wochen (26. Tag nach Ablauf der Wartezeit). Bei diesen Untersuchungen fiel auf, daß vereinzelt Viertelgemelke (und seltener Gesamtgemelke) ein positives Ergebnis erbrachten, obwohl bei der vorhergehenden Untersuchung Hemmstoffe nicht nachgewiesen werden konnten. Hemmstoffpositive Befunde ergaben sich bei der Prüfung der jeweiligen Bestandsmilch nur für 1 (1,8 %) der 57 Bestände, und zwar sowohl am ersten als auch am zweiten Tag nach Ablauf der Wartezeit.

Tabelle 6: Nachweis von Hemmstoffen (Agar-Diffusionstest) in Viertel- und Gesamtgemelken von 151 antibiotisch trockengestellten Kühen unter Berücksichtigung der Wartezeit

Tage nach Ablauf der Wartezeit	Anzahl der Kühe (Anteil) mit hemmstoffpositiven Viertelgemelken		Anzahl der Kühe (Anteil) mit hemmstoffpositiven Gesamtgemelken	
	n	%	n	%
1	61	40,4	27	17,9
2	54	35,8	17	11,3
3	45	29,8	13	8,6
4	35	23,2	9	6,0
5	31	20,5	8	5,3
6	27	17,9	7	4,6
7	23	15,2	7	4,6
8-14	17	11,3	5	3,3
15-21	4	2,6	-	-
22	3	2,0	-	-
26	1	0,7	-	-
33	-	-	-	-

4.1.1.2 Vorkommen von Oxacillin-Rückständen

In einer zweiten Untersuchungsreihe wurden die hemmstoffpositiven Proben nochmals im Agar-Diffusionstest geprüft, nachdem sie mit Penicillinase (Endkonzentration: 40.000 E/ml) versetzt worden waren. Auf diese Weise sollte sichergestellt werden, daß es sich bei den Hemmstoffen um auf die Behandlung mit Oxacillinhaltigen Trockenstellern zurückzuführende Rückstände handelt.

Keine der vor dem Trockenstellen entnommenen Viertelgemelksproben enthielt Oxacillin-Rückstände. Demgegenüber zeigte sich, daß am ersten Tag nach Ablauf der Wartezeit 50 (33,1 %) der 151 behandelten Kühe Oxacillin-Rückstände im Viertelgemelk ausschieden (Tab. 7). Die Zahl der Kühe mit Oxacillin-positiven Viertelgemelken nahm zwar stetig ab, belief sich jedoch noch am 7. Tag auf 23 (15,2 %). Erst etwa 4 Wochen nach Ablauf der Wartezeit waren keine Oxacillin-Rückstände in nachweisbaren Mengen ($\geq 0,02 \mu\text{g/ml}$) mehr in den Viertelgemelken vorhanden. Die unter Zuhilfenahme der Regressionsgeraden (s. Abb. 3) errechneten durchschnittlichen Oxacillin-Konzentrationen lagen zwischen 0,39 (1. Tag nach Ablauf der Wartezeit) und 0,07 $\mu\text{g/ml}$ (22. Tag nach Ablauf der Wartezeit); das am 26. Tag nach Ablauf der Wartezeit positive Viertelgemelk enthielt 0,02 $\mu\text{g/ml}$ (Tab. 7). Auch wenn sich mit zunehmender Ausscheidungszeit in der Tendenz eine allmähliche Abnahme bei den durchschnittlichen Oxacillin-Konzentrationen erkennen läßt, so waren doch bei den einzelnen Viertelgemelken wiederholt auch entgegengesetzte Effekte zu beobachten. Auffällig waren die z.T. erheblichen individuellen Unterschiede; vergleichbar starke Differenzen zwischen Vorder- und Hintervierteln wurden nicht registriert.

Tabelle 7: Nachweis von Oxacillin-Rückständen in Viertelgemelken von 151 antibiotisch trockengestellten Kühen unter Berücksichtigung der Wartezeit

Tage nach Ablauf der Wartezeit	Anzahl der Kühe (Anteil) mit Oxacillin-positiven Viertelgemelken		Oxacillin-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$)		
	n	%	$\bar{x}_a$	s	Extremwerte
1	50	33,1	0,39	$\pm 0,092$	0,02 - 2,50
2	48	31,8	0,11	$\pm 0,027$	0,02 - 2,37
3	44	29,1	0,10	$\pm 0,023$	0,02 - 0,88
4	35	23,2	0,09	$\pm 0,022$	0,02 - 0,54
5	31	20,5	0,18	$\pm 0,042$	0,02 - 2,96
6	27	17,9	0,11	$\pm 0,018$	0,02 - 0,40
7	23	15,2	0,09	$\pm 0,021$	0,02 - 0,83
8-14	17	11,3	0,12	$\pm 0,028$	0,02 - 0,84
15-21	4	2,6	0,05	$\pm 0,023$	0,02 - 0,12
22	3	2,0	0,07	$\pm 0,114$	0,02 - 0,42
26	1	0,7	(0,02)	-	-
33	-	-	-	-	-

Die Zahl der Kühe mit Oxacillin-positiven Gesamtgemelken (Tab. 8) war an den vergleichbaren Untersuchungstagen stets wesentlich niedriger als die Zahl der Kühe mit Oxacillin-positiven Viertelgemelken. So ließen sich am ersten Tage nach Ablauf der Wartezeit nur bei 26 (17,2 %) der 151 behandelten Kühe Oxacillin-Rückstände im Gesamtgemelk finden. Bei der Hälfte dieser 26 Kühe waren die Gesamtgemelke aber bereits am dritten Tag nach Ablauf der Wartezeit negativ (Tab. 9). Spätestens 15 Tage nach Ablauf der Wartezeit waren die Gesamtgemelke aller behandelten Tiere frei von Oxacillin-Rückständen in nachweisbaren Mengen.

Tabelle 8: Nachweis von Oxacillin-Rückständen in Gesamtgemelken von 151 antibiotisch trockengestellten Kühen unter Berücksichtigung der Wartezeit

Tage nach Ablauf der Wartezeit	Anzahl der Kühe (Anteil) mit hemm- stoffpositivem Gesamtgemelk		Oxacillin-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$)		
	n	%	$\bar{x}_a$	s	Extremwerte
1	26	17,2	0,12	$\pm 0,027$	0,02 - 1,16
2	16	10,6	0,07	$\pm 0,012$	0,02 - 0,38
3	13	8,6	0,07	$\pm 0,015$	0,02 - 0,26
4	9	6,0	0,07	$\pm 0,013$	0,02 - 0,22
5	8	5,3	0,06	$\pm 0,010$	0,02 - 0,19
6	7	4,6	0,05	$\pm 0,008$	0,02 - 0,15
7	7	4,6	0,04	$\pm 0,004$	0,02 - 0,07
8-14	5	3,3	0,04	$\pm 0,004$	0,02 - 0,06
15-21	-	-	-	-	-

Tabelle 9: Dauer der Ausscheidung von Oxacillin-Rückständen im Gesamtgemelk nach Ablauf der Wartezeit (26 Kühe)

Ausscheidungsdauer nach Ablauf der Wartezeit (Tage)	Anzahl der Kühe
1	10 (38,5 %)
2	3 (11,5 %)
3	4 (15,4 %)
4	1 (3,9 %)
5	1 (3,9 %)
7	2 (7,7 %)
8	2 (7,7 %)
13	1 (3,9 %)
14	2 (7,7 %)

Die durchschnittlichen Oxacillin-Konzentrationen sanken von 0,12 µg/ml (am ersten Tag nach Ablauf der Wartezeit) auf 0,04 µg/ml (1-2 Wochen nach Ablauf der Wartezeit); auch die maximalen Konzentrationen nahmen von Tag zu Tag ab und unterschieden sich zuletzt mit 0,06 µg/ml vergleichsweise wenig vom Mittelwert (Tab. 8). Erwartungsgemäß waren beim letztmaligen positiven Befund die Oxacillin-Konzentrationen in den Gesamtgemelken relativ gering: nur bei 6 der 26 Kühe (23,1 %) waren Konzentrationen von über 0,03 µg/ml festgestellt worden.

Wie bereits aus den Tabellen 7 und 8 abzuleiten ist, wurden wiederholt Oxacillin-Rückstände in Viertelgemelken einer Kuh gefunden, nicht aber in deren Gesamtgemelk. Eine Gegenüberstellung der Befunde unter Berücksichtigung der Anzahl der Oxacillin-positiven Viertelgemelke/Kuh läßt erkennen (Tab. 10), daß nur bei 5 der insgesamt 91 Oxacillin-haltigen Gesamtgemelke Oxacillin in weniger als drei Vierteln/Kuh ermittelt wurde. Auch wenn somit einerseits Oxacillin-positive Gesamtgemelke fast ausschließlich dann zu beobachten waren, wenn in mindestens drei Vierteln/Kuh Oxacillin-Rückstände vorhanden waren, so waren doch andererseits nur in 59 (64,8 %) von 91 Fällen mit Oxacillin in allen vier Vierteln (Endgemelk) auch die Gesamtgemelke positiv (Tab. 10). Nur am 6. Tag nach Ablauf der Warte-

Tabelle 10: Beziehung zwischen Anzahl der Oxacillin-positiven Viertelgemelke pro Kuh und Oxacillin-positivem Gesamtgemelk (1. bis 26. Tag nach Ablauf der Wartezeit)

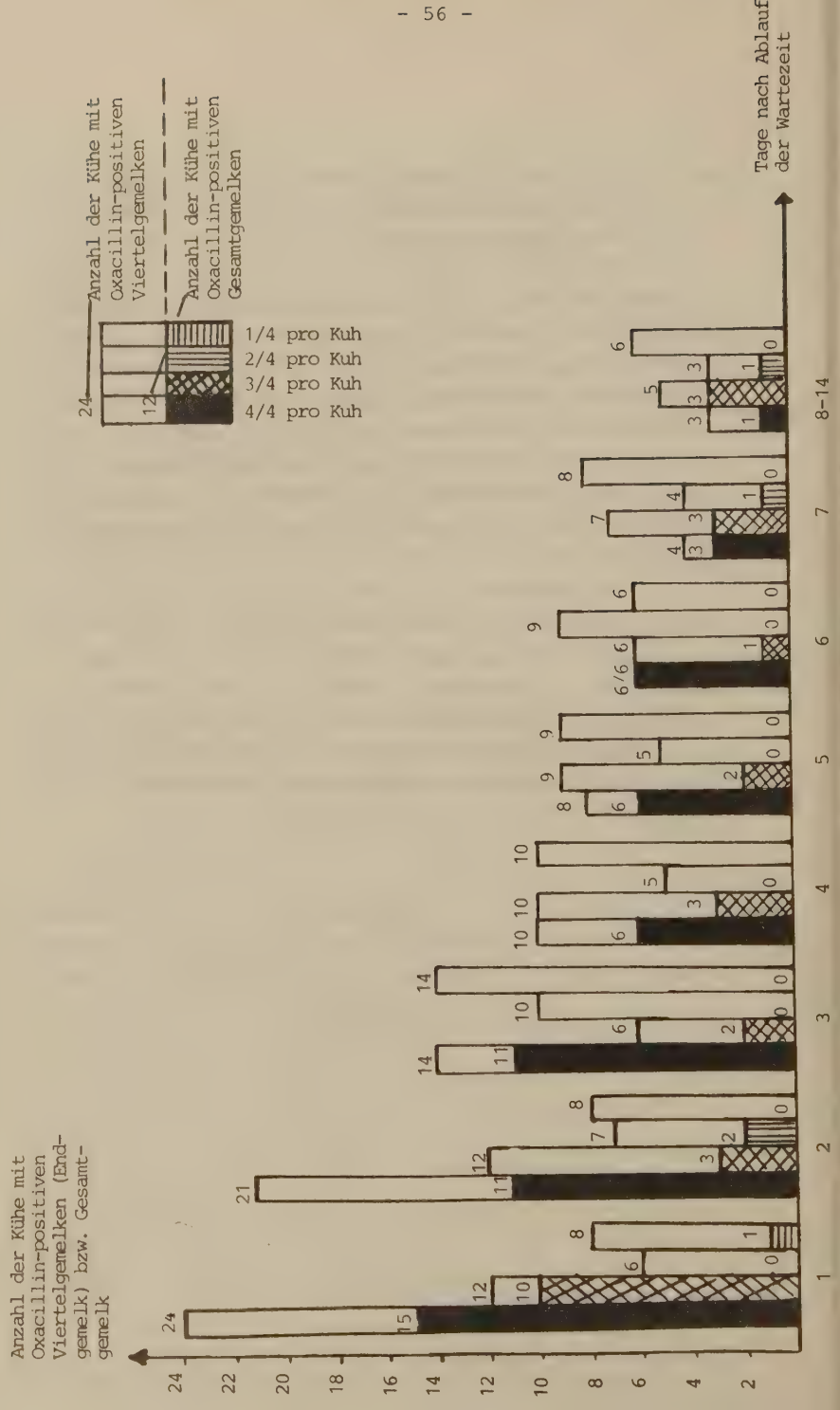
Anzahl der Oxacillin-pos. Viertelgemelke/Kuh	Häufigkeit Oxacillin-pos. Viertelgemelke (Endgemelk)	Häufigkeit Oxacillin-pos. Gesamtgemelke
4	91	59 (64,8 %)
3	67	27 (40,3 %)
2	54	4 (7,4 %)
1	71	1 (1,4 %)
total	283	91 (32,2 %)

zeit bestand eine Übereinstimmung in der Zahl der Kühe mit Oxacillin-Rückständen in allen Viertelgemelken und Gesamtgemelk (Abb. 4).

Die Hemmstoffe der beiden Bestandsmilchproben vom ersten und zweiten Tag nach Ablauf der Wartezeit wurden als Oxacillin-Rückstände (jeweils 0,04 µg/ml) identifiziert. Diese Milch stammt aus einem Bestand, in dem zwei von vier Kühen mit Oxacillin trockenge stellt worden waren und am gleichen Tag abgekalbt hatten. Die Gesamtgemelke der beiden Kühe hatten an o.a. Tagen ebenfalls positiv im Agar-Diffusionstest reagiert.

Während die Oxacillin-haltigen Milchproben auch nach Erhitzung für 10 Min. auf 80 °C eine deutliche Hemmung des Testkeimes bewirkten, wurden die nicht identifizierten Hemmstoffe der anderen 38 Milchproben (je 18 Viertelgemelke vor und nach Trockenstellen sowie 2 Gesamtgemelke) durch die Erhitzung vollständig inaktiviert.

Abbildung 4: Beziehung zwischen Anzahl der Oxacillin-positiven Viertelgemelke pro Kuh und Oxacillin-positivem Gesamtgemelk in Abhängigkeit von der Frist nach Ablauf der Wartezeit



4.1.2 Brillantschwarz-Reduktionstest

Dieselbe Verdünnungsreihe, die schon für den Agar-Diffusionstest (s. 4.1.1) verwendet worden war, diente zur Feststellung der Nachweisgrenze für Oxacillin-Rückstände im BRT. Bei 0,01 µg/ml Milch zeigte der BRT eine klare Verfärbung ins Gelbe, wohingegen bei einer Konzentration von 0,02 µg/ml ein Farbumschlag ausblieb, d.h. die Nährböden ihre blaue Farbe behielten. Somit lag auch mit dem BRT die Nachweisgrenze bei 0,02 µg Oxacillin/ml Milch.

4.1.2.1 Häufigkeit hemmstoffpositiver Befunde

Abweichend vom Agar-Diffusionstest wurden im Hinblick auf eine ökonomische Durchführung des BRT nur die bei -20 °C eingefrorenen und gelagerten Milchproben eingesetzt. Außerdem erstreckten sich die Untersuchungen nur auf die nach Ablauf der Wartezeit entnommenen Proben.

Aus Tabelle 11 geht hervor, daß am ersten Tag nach Ablauf der Wartezeit die Viertelgemelke von 43 Kühen (28,5 %) bzw. die Gesamtgemelke von 24 Kühen (15,9 %) hemmstoffpositiv waren. Die Anzahl positiver Befunde nahm sowohl bei den Viertelgemelken als auch bei den Gesamtgemelken kontinuierlich ab. Hemmstoffpositive Viertelgemelke waren allerdings über einen deutlich längeren Zeitraum (22 Tage nach Ablauf der Wartezeit) zu beobachten als hemmstoffpositive Gesamtgemelke

Tabelle 11: Nachweis von Hemmstoffen (Brillantschwarz-Reduktionstest) in Viertel- und Gesamtgemelken von 151 antibiotisch trockengestellten Kühen unter Berücksichtigung der Wartezeit.

Tage nach Ablauf der Wartezeit	Anzahl der Kühe (Anteil) mit hemmstoffpositiven Viertelgemelken		Anzahl der Kühe (Anteil) mit hemmstoffpositiven Gesamtgemelken	
	n	%	n	%
1	43	28,5	24	15,9
2	43	28,5	16	10,6
3	33	21,9	13	8,6
4	27	17,9	10	6,6
5	24	15,9	8	5,3
6	20	13,2	8	5,3
7	17	11,3	5	3,3
8-14	14	9,3	5	3,3
15-21	4	2,6	-	-
22	2	1,3	-	-
26	-	-	-	-
33	-	-	-	-

(14 Tage nach Ablauf der Wartezeit). Bei der Untersuchung der jeweiligen Bestandsmilchproben zeigten sich positive Resultate nur in einem (1,8 %) der 57 Bestände, und zwar am 1. und 2. Tag nach Ablauf der Wartezeit.

Da eine weitgehende Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen im Agar-Diffusionstest und BRT gegeben war, wurde darauf verzichtet, die hemmstoffpositiven Proben nach Zusatz von Penase auch im BRT auf die Anwesenheit von Oxacillin zu prüfen.

4.2 Zytologische Untersuchungen

Beim letzten Melken vor dem antibiotischen Trockenstellen der Kühe wurde der Gesundheitszustand der Euterviertel mittels Schalm-Mastitis-Test (SMT) orientierend bestimmt und entsprechend dem Originalschlüssel von SCHALM (1960) bewertet. Demnach waren insgesamt 228 (38,2 %) der 597 Viertelgemelke von 151 Kühen als positiv - 1(+) bis 3(+++) - zu beurteilen (Tab. 12). Der Anteil der Kühe mit einer positiven Reaktion auf zumindest einem Viertel belief sich sogar auf 101 (66,9 %) (Tab. 13). Bei derartigen Proben wird nach SCHALM von einem Zellgehalt von 400.000/ml bis über 5.000.000/ml ausgegangen, wobei es sich bei 40 - 80 % der Zellen um polymorphkernige Leukozyten handeln soll.

Tabelle 12: Ergebnis des Schalm-Mastitis-Test (SMT)
bei 597 vor dem Trockenstellen geprüften
Viertelgemelksproben

Reaktion im SMT	Anzahl der Proben (Anteil)
-	346 (58,0 %)
+	23 (3,8 %)
1(+)	178 (29,8 %)
2(++)	43 (7,2 %)
3(+++)	7 (1,2 %)
total	597 (100 %)

Tabelle 13: Ergebnis des Schalm-Mastitis-Test (SMT) bei
151 Kühen vor dem Trockenstellen mit Oxacillin

Anzahl der SMT-positiven ⁺⁾ Viertel/Kuh	Anzahl der Kühe (Anteil)
0	50 (33,1 %)
1	32 (21,2 %)
2	30 (19,9 %)
3	20 (13,2 %)
4	19 (12,6 %)

⁺⁾ 1(+) bis 3(+++)

Die Auswertung des bei den 228 SMT-positiven Viertel-
gemelksproben angefertigten Kieler Ausstrichs ent-
sprechend dem von OBIGER (1962) beschriebenen Schema
ergab dann, daß nur noch 135 Viertel aufgrund eines
erhöhten Zellgehalt auffielen (Tab. 14). Infolgedessen
wiesen entsprechend dem Kieler Ausstrichverfahren
auch nur insgesamt 64 (42,4 %) der 151 Kühe auf minde-
stens einem Viertel einen erhöhten Zellgehalt auf.

Tabelle 14: Ergebnisse des Kieler Ausstrichverfahrens bei 228 vor dem Trockenstellen entnommenen, im Schalm-Mastitis-Test (SMT) positiven Viertelgemelksproben

Befund im Kieler Ausstrichverfahren	Anzahl der Viertelgemelke (Anteil)
normaler Zellgehalt (1-5 Zellen/Gesichtsfeld)	93 (40,8 %)
erhöhter Zellgehalt ($\geq$ 5 Zellen/Gesichtsfeld)	84 (36,8 %)
Sekretionsstörung, mikroskopisch nachweisbarer Eiter (Zellen unzählbar, größere Zellanhäufungen, Zellkonglomerate)	51 (22,4 %)

Bei den Proben mit erhöhtem Zellgehalt war fast immer, bei den Proben mit unzählbarem Zellgehalt ausnahmslos eine Zunahme des Gehaltes an Granulozyten festzustellen. Außerdem wurden gehäuft Epithelzellen, aber auch Lymphozyten und seltener Monozyten registriert. Bei 44 (32,6 %) der 135 Viertelgemelke war eine Phagozytose zu beobachten, wobei es sich bei den phagozytierten Keimen in 39 Fällen um Kokken handelte und in 5 Fällen um Stäbchen.

4.3 Bakteriologische Untersuchungen

Zur Ermittlung des Vorkommens von Mastitiserregern vor und nach dem Trockenstellen mit Oxacillin wurden die beim letzten Melken vor dem Trockenstellen bzw. am 6. Tage nach dem Abkalben gewonnenen Viertelgemelke bakteriologisch untersucht.

4.3.1 Vor dem Trockenstellen

In 105 (77,8 %) der 135 Viertelgemelke, bei denen im Kieler Ausstrich ein erhöhter Zellgehalt festgestellt worden war, konnten kulturell Keime (über 250/ml) nachgewiesen werden, die wahrscheinlich für die Zellgehaltserhöhung verantwortlich waren (Tab. 15). Dabei wurden überwiegend Streptokokken - außer *Sc. agalactiae* - isoliert.

Tabelle 15: Kultureller Nachweis von euterpathogenen Mikroorganismen (>250/ml) in 105 unter aseptischen Bedingungen entnommenen Viertelgemelksproben mit erhöhtem Zellgehalt

Euterpathogene Mikroorganismen	Anzahl der Viertelgemelke (Anteil)
<i>S. aureus</i>	4 (3,8 %)
sonstige Micrococcaceae	27 (25,7 %)
<i>Sc. agalactiae</i>	0 (0 %)
sonstige Streptokokken	72 (68,6 %)
Gramnegative	2 (1,9 %)

Die 105 Viertelgemelke stammten von 50 Kühen (Tab. 16). Bei 22 der 32 Kühe, bei denen der kulturelle Nachweis auf mehr als einem Viertel positiv ausfiel, wurden in den betreffenden Viertelgemelken die gleichen Mikroorganismen isoliert.

Tabelle 16: Häufigkeit kulturell positiver Viertel pro Kuh bei 64 Kühen mit erhöhtem Zellgehalt auf mindestens einem Viertel

Anzahl der kulturell pos. Viertelgemelke/Kuh	Anzahl der Kühe mit pos. Viertelgemelken (Anteil)	Anzahl der pos. Viertelgemelke
1	18 (28,1 %)	18
2	14 (21,9 %)	28
3	13 (20,3 %)	39
4	5 (7,8 %)	20
insgesamt:	50 (78,1 %)	105

Bei 50 (57,5 %) der 87 Kühe, deren Viertelgemelke entsprechend dem Kieler Ausstrichverfahren alle einen normalen Zellgehalt aufwiesen, wurden kulturell ebenfalls potentiell euterpathogene Mikroorganismen nachgewiesen (Tab. 17).

Tabelle 17: Kultureller Nachweis von euterpathogenen Mikroorganismen ($>250/\text{ml}$) in unter aseptischen Bedingungen entnommenen Viertelgemelksproben mit normalem Zellgehalt

Anzahl der kulturell pos. Viertelgemelke/Kuh	Anzahl der Kühe mit pos. Viertelgemelken (Anteil)	Anzahl der pos. Viertelgemelke
1	24 (27,6 %)	24
2	15 (17,2 %)	30
3	5 (5,8 %)	15
4	6 (6,9 %)	24
insgesamt:	50 (57,5 %)	93

Bei den Erregern handelte es sich wiederum überwiegend um sonstige Streptokokken (53 Viertelgemelke) bzw. sonstige Micrococcaceae (29 Viertelgemelke). Aus 4 Proben wurde *S. aureus* isoliert, aus den restlichen 7 Proben Gram-negative bzw. Mischkulturen.

Tabelle 18: Kultureller Nachweis von euterpathogenen Mikroorganismen ($> 250/\text{ml}$) in am 6. Tag nach dem Abkalben unter aseptischen Bedingungen entnommenen Viertelgemelksproben

Anzahl der pos. Viertel- gemelke pro Kuh	Anzahl der Kühe mit pos. Viertelgemelken				Anzahl der positiven Viertelgemelke			
	A ⁺	B ⁺	C ⁺	total	A ⁺	B ⁺	C ⁺	total
1	6	8	25	39	6	8	25	39
2	4	2	0	6	8	4	0	12
3	1	0	0	1	3	0	0	3
4	0	0	0	0	0	0	0	0
insgesamt:	11	10	25	46	17	12	25	54

⁺A = vor dem Trockenstellen erhöhter Zellgehalt und positiver bakteriologischer Befund

B = vor dem Trockenstellen normaler Zellgehalt und positiver bakteriologischer Befund

C = vor dem Trockenstellen normaler Zellgehalt und negativer bakteriologischer Befund

4.3.2 Nach dem Abkalben

Am 6. Tag nach dem Abkalben wurden euterpathogene Mikroorganismen ($> 250/\text{ml}$) insgesamt nur in 54 Viertelgemelksproben von 46 Kühen gefunden (Tab. 18). Bei diesen Ergebnissen ist zu berücksichtigen, daß 25 (46,3 %) Viertel (je 9 x mit sonstigen Micrococcaceae bzw. Gramnegativen und 7 x mit sonstigen Streptokokken) erstmals nach dem Abkalben aufgefallen waren und nur 29 (53,7 %) der Viertel bereits bei den Untersuchungen anlässlich des Trockenstellens ein positives Ergebnis (erhöhter Zellgehalt und/oder Anwesenheit von Mastitis-erregern) erbracht hatten.

Tabelle 19: Vergleich der bei der bakteriologischen Untersuchung vor dem Trockenstellen und nach dem Abkalben registrierten Ergebnisse bei Vierteln mit erhöhtem Zellgehalt (vor dem Trockenstellen)

Euteropathogene Mikroorganismen	Anzahl der pos. Viertelgemelke	
	vor dem Trockenstellen	davon nach dem Abkalben (Anteil)
S. aureus	4	0 (0 %)
sonstige Micrococcaceae	27	4 (14,8 %)
Sc. agalactiae	0	-
sonstige Streptokokken	72	13 (18,1 %)
Gramnegative	2	0 (0 %)
insgesamt:	105	17 (16,2 %)

Der Tabelle 19 kann entnommen werden, daß nur 17 (16,2 %) der 105 Viertel, die vor dem Trockenstellen einen erhöhten Zellgehalt und Mastitiserreger aufgewiesen hatten, diese Keime auch nach dem Abkalben ausschieden. Dabei war der Effekt des Oxacillins gegenüber Streptokokken etwas geringer als jener gegenüber den Micrococcaceae.

Tabelle 20: Vergleich der bei der bakteriologischen Untersuchung vor dem Trockenstellen und nach dem Abkalben registrierten Ergebnisse bei Vierteln mit normalem Zellgehalt (vor dem Trockenstellen)

Euteropathogene Mikroorganismen	Anzahl der pos. Viertelgemelke	
	vor dem Trockenstellen	davon nach dem Abkalben (Anteil)
S. aureus	4	0 (0 %)
sonstige Micrococcaceae	29	5 (17,2 %)
Sc. agalactiae	0	-
sonstige Streptokokken	53	7 (13,2 %)
Gram-negative	4	0 (0 %)
Mischkulturen	3	0 (0 %)
insgesamt:	93	12 (12,9 %)

Bei den Vierteln, die vor dem Trockenstellen allein durch die Anwesenheit von Mastitiserregern aufgefallen waren, ließen sich ähnliche Verhältnisse registrieren.

Von den 93 Proben waren am 6. Tag nach dem Abkalben nur noch bei 12 (12,9 %) die gleichen Erreger nachzuweisen (Tab. 20). Allerdings ist bei diesen Proben nicht eindeutig auszuschließen, daß es sich möglicherweise nicht um echte latente Infektionen gehandelt hat. Insgesamt kann aber festgestellt werden, daß durch das Trocknen mit Oxacillin die Anzahl von Vierteln bzw. Tieren mit positivem bakteriologischen Befund signifikant abgenommen hat (im Mittel über 80 % der Viertel bzw. etwa 80 % der Tiere). Die Ergebnisse deuten dabei an (Tab. 19 u. 20), daß möglicherweise geringe Unterschiede in Abhängigkeit vom Erreger bestehen.

5 BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die antibiotische Versorgung des Rindereuters beim Trockenstellen gilt als eine wichtige Maßnahme zur Bekämpfung der subklinischen Form der Rindermastitis. Sie hat vorzugsweise therapeutische, aber auch prophylaktische Ziele und ist dann als optimal anzusehen, wenn Antibiotikaformulierungen eingesetzt werden, die eine lange Verweildauer des Wirkstoffs in antibakteriell wirksamer Konzentration in der ersten Hälfte der Trockenzeit gewährleisten (JACOBS et al., 1972; ZIV, 1975; NEUMEISTER et al., 1975; GEDEK, 1979), da auch in dieser Zeit häufig mit Euterinfektionen zu rechnen ist. Die Trockenzeitbehandlung erfolgt gewöhnlich nach dem letzten Melken und hat den Vorteil, daß für den Tierbesitzer finanzielle Verluste, wie sie ihm während der Laktation durch das Zurückhalten hemmstoffhaltiger Milch entstünden, während der Trockenstellphase ohne Belang sind.

Normalerweise ist die Milch nach Ablauf der Kolostralmilchperiode frei von Antibiotikarückständen des verwendeten Präparates (SCHMID, 1969; GARHAMMER, 1972; JACOBS et al., 1972; ZIV et al., 1973a und b), wenn die Tiere zu Beginn der Trockenzeit behandelt worden sind. In letzter Zeit häuften sich jedoch Berichte aus der Praxis, in denen von Antibiotikarückständen in der Milch von Kühen die Rede war, die nach dem letzten Melken der vorangegangenen Laktation mit einem Oxacillinhaltigen Trockenstellpräparat⁺) behandelt worden waren.

⁺) Bei dem von der Firma Bayer hergestellten Präparat handelt es sich um eine Formulierung aus 219,9 mg Oxacillin-Na und 1039,5 mg NND'-Oxacillin in 7,5 g neutraler Salbengrundlage.

Teilweise waren Rückstände über 20 Wochen (TERPLAN, 1983; BUFF, 1986) nachweisbar.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, an etwa 150 Milchkühen zu überprüfen, ob die Wartezeit dieses Trockenstellpräparates (welche mit 5 Tagen post partum angegeben ist, wenn die Behandlung mindestens 35 Tage vor dem Kalben erfolgt, bei kürzerer Trockenstellzeit aber 40 Tage ab Behandlung beträgt) in der Regel ausreicht, oder ob zu Beginn der neuen Laktation gehäuft mit Antibiotikarückständen in der Milch gerechnet werden muß. Außerdem sollte die Wirksamkeit dieses Präparates gegenüber euterpathogenen Mikroorganismen kontrolliert werden.

Das medikamentelle Trockenstellen erfolgte nach gründlichem Ausmelken und Reinigen des Euters, indem in jedes Euterviertel der Inhalt eines Injektors eingebracht wurde. Eine zusätzliche Vor- oder Nachbehandlung fand nicht statt. Am 6. Tag nach Laktationsbeginn (bzw. bei 7 Kühen am 41. Tag nach Behandlung) wurden Viertel-, Gesamtgemelks- und Bestandsmilchproben gezogen. Sofern in den Milchproben Hemmstoffe nachweisbar waren, wurden so lange Proben gezogen, bis alle Viertelgemelksproben sich als hemmstofffrei erwiesen. Da in Vorversuchen festgestellt wurde, daß die Oxacillin-Konzentrationen in der Endgemelksfraktion immer deutlich höher waren als im Anfangsgemelk, wurden für die weiteren Untersuchungen nur Viertelgemelke herangezogen. Auch KAUP (1975) hatte bei seinen Ausscheidungsversuchen mit intramammär applizierten Penicillin G- bzw. Tetracyclinhaltigen Präparaten in der Mehrzahl der Fälle einen signifikant höheren Antibiotikumgehalt im Endgemelk registriert und daher empfohlen, im Falle einer Beanstandung der Bestandsmilch Endgemelksproben zu ziehen,

um die behandelten Tiere ausfindig zu machen. In älteren Experimenten mit Penicillin-haltigen Präparaten (PACKER, 1948; TRUSSEL und STEVENSON, 1949; u.a.) wurde dagegen über höhere Rückstandskonzentrationen im Anfangsgemelk berichtet. Diese Differenzen sind möglicherweise durch die unterschiedliche galenische Formulierung der Präparate bedingt (KAUP, 1975).

Die Untersuchung der Milchproben auf Rückstände erfolgte gemäß der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG mit dem Agar-Diffusionstest (*B. stearothermophilus* var. *calidolactis*) sowie dem Brillantschwarz-Reduktionstest, der auf Hemmung des gleichen Keimes beruht. Um zwischen unspezifischen Rückständen und Oxacillin-Rückständen zu differenzieren, wurden sämtliche im Agar-Diffusionstest positiven Proben erstens 10 Minuten lang auf 80 °C erhitzt und zweitens mit Penicillinase versetzt, um dann noch einmal im Agar-Diffusionstest angesetzt zu werden. Dabei wurde entsprechend den auf Empfehlungen von GEDEK und BAATH (1976) zurückgehenden Angaben der amtlichen Methode eine für die Identifizierung von halbsynthetischen Penicillinen erforderliche erhöhte Penicillinase-Dosis verwendet.

Die Nachweisgrenze für Oxacillin-Rückstände im Agar-Diffusionstest betrug 0,02 µg/ml und entspricht in etwa dem von GEDEK und TERPLAN (1974) sowie KAUP (1975) beschriebenen Wert von 0,016 µg Oxacillin/ml. Da in den eigenen Versuchen diese Konzentration nicht eingesetzt wurde - die nächstniedrigere war 0,01 µg/ml - ist nicht zu entscheiden, ob überhaupt ein Unterschied besteht. Allerdings fällt bei genauer Durchsicht der o.a Arbeit auf, daß ein anderes Nährmedium mit einem niedrigeren pH-Wert (Antibiotika-Nachweis-Medium Nr. 1; pH 6,5)

verwendet worden war. Nach einer mündlichen Mitteilung von GEDEK (1986) ist es derzeit nicht mehr möglich, unter die Nachweisgrenze von 0,02 µg Oxacillin/ml zu gelangen. Damit wurde die während der eigenen Untersuchungen vom BGA (1984) für Rückstandsnachweisverfahren im Hinblick auf Oxacillin publizierte Nachweisgrenze von 10 µg/kg zwar nicht erreicht, doch gelang dies bisher offensichtlich nur HAMANN und HEESCHEN (1983) mit einem anderen Testorganismus (*B. stearothermophilus*-Sporensuspension der Fa. Merck) und einem völlig anderen Nachweismedium (Testagar für den Antibiotika-Sulfonamide-Rückstandstest nach KUNDRAT) als in der amtlichen Sammlung nach § 35 LMBG beschrieben.

Zum Ausschluß individuell bedingter unspezifischer Rückstände wurden bereits vor dem Trockenstellen bei einigen Tieren Untersuchungen über deren Hemmstoffgehalt in Milch (Viertelgemelke) gemacht. Dabei erwiesen sich zwar mehrere Proben während der Frühjahrs- und Herbstfütterung als positiv, im Winter und Sommer waren aber alle Proben negativ. Da die Hemmstoffe der 18 positiven Stichproben hitzelabil waren (10-minütige Erhitzung auf 80 °C), sind sie als unspezifisch anzusehen. Derartige Hemmungen von *B. stearothermophilus* var. *calidolactis* werden durch verschiedene Stoffe ausgelöst (s.a. NEUMANN, 1987), doch liegt der Verdacht nahe, daß es sich in diesen Fällen um fütterungsbedingte Reaktionen handelt. ZEITRÄG (1970) befaßte sich ausgiebig mit dem Problem der aus Futterpflanzen stammenden Hemmstoffe in der Milch und machte je nach Fütterungsart ähnliche Erfahrungen bezüglich der jahreszeitlichen Abhängigkeit. Unwahrscheinlich ist, daß der Hemmstofftest aufgrund der Anwesenheit von Antibiotikarückständen positiv ausfiel, für β -Lactamantibiotika ist es mit Sicherheit auszuschließen, da die Hemmstoffe durch Penicillinase nicht inaktiviert wurden.

Auch in der sich anschließenden Laktation wurden unspezifische Hemmungen von *B. stearothermophilus* var. *calidolactis* beobachtet. So reagierten am sechsten Tag nach dem Abkalben Viertelgemelksproben von 11 Kühen (7,3 %) positiv im Agar-Diffusionstest. Diese wiederum durch hitzelabile Stoffe bedingten Reaktionen traten jedoch insbesondere im Sommer und Winter auf. Vermutlich kommen daher auch andere Ursachen für die Hemmung als vor dem Trockenstellen in Betracht. Dabei ist auch an unspezifische Faktoren des Kolostrum (REITER, 1978) zu denken, zumal bekannt ist, daß Kolostrum vereinzelt das Wachstum von *B. stearothermophilus* var. *calidolactis* hemmt (WALLNER, 1972).

Von den 151 Kühen, die nach dem Abkalben in die Auswertung kamen, schieden am ersten Tag nach Ablauf der Wartezeit 50 (33,1 %) in Viertelgemelken Oxacillin-Rückstände aus, und zwar 24 Kühe auf vier Vierteln, 12 auf drei Vierteln, 6 auf zwei Vierteln und 8 auf einem Viertel. Die Rückstandskonzentrationen waren weit gestreut und bewegten sich zwischen 0,02 µg Oxacillin/ml und 2,5 µg/ml, was eine Durchschnittskonzentration von 0,39 µg/ml ergab. Am 7. Tag nach Ablauf der Wartezeit waren immerhin noch bei 23 Kühen (15,2 %) in den Viertelgemelken Oxacillin-Rückstände von durchschnittlich 0,09 µg/ml nachweisbar, am 15. Tag nach Ablauf der Wartezeit bei 4 Kühen solche von 0,05 µg/ml. Ab dem 26. bis zum 32. Tag hatte nur noch eine Kuh Oxacillin-Rückstände in nachweisbaren Mengen in einem Viertelgemelk (0,02 µg/ml). Vergleichbare Angaben anderer Autoren zu dieser Fragestellung liegen nicht vor. Die Ergebnisse von GARHAMMER (1972) sowie HAMANN und HEESCHEN (1983), die am letzten Untersuchungs-termin (58. Tag bzw. 8. Woche nach Applikation) noch

Rückstände fanden, können nicht herangezogen werden, da diese Autoren nur Trockensekrete prüften.

Auffällig waren die bei den 151 Kühen festgestellten erheblichen Unterschiede hinsichtlich der Oxacillin-Ausscheidung über die Viertelgemelke. Die Vermutung, daß diese Differenzen durch die Länge der Trockenstellzeit bedingt sind, ließ sich teilweise bestätigen. Tabelle 21 ist nämlich zu entnehmen, daß sich der Anteil der Kühe mit Oxacillin-positivem(n) Viertelgemelk(en) bei einer Trockenstellzeit von mindestens 80 Tagen auf 0 % belief, bei einer Trockenstelldauer von 50 - 79 Tagen bzw. von 35 - 49 Tagen aber bereits etwa 20 - 30 % bzw. etwa 50 % betrug. Am ungünstigsten waren

Tabelle 21: Beziehung zwischen Trockenstelldauer und Ausscheidung von Oxacillin-Rückständen im Viertelgemelk nach Ablauf der Wartezeit

Trockenstell- dauer (d)	Anzahl der Kühe	davon mit Oxacillin-pos. Viertelgemelk	Dauer der Ausscheidung (d)	
			$\bar{x}_a \pm s$	Extremwerte
80	7	0	./.	./.
70 - 79	10	3 (30 %)	$4,0 \pm 2,6$	2 - 7
60 - 69	41	7 (17,1 %)	$3,3 \pm 1,6$	2 - 6
50 - 59	55	18 (32,7 %)	$9,3 \pm 8,9$	3 - 25
40 - 49	29	14 (48,3 %)	$6,6 \pm 4,9$	3 - 21
35 - 39	2	1 (50 %)	7,0 ./.	7
20 - 34	7	7 (100 %)	$10,7 \pm 10,4$	1 - 32

die Verhältnisse bei den Kühen, die weniger als 35 Tage vor dem Abkalben trockengestellt worden waren, da bei allen Tieren nach Ablauf der Wartezeit (40 Tage post applicationem) Rückstände in Viertelgemelken festgestellt wurden. Ähnliche Tendenzen ergaben sich auch hinsichtlich der Oxacillin-Ausscheidungsdauer nach Ablauf der Wartezeit (Tab. 21). Bei den weniger als 35 Tage vor dem Abkalben trockengestellten Kühen erstreckte sich die Ausscheidung im Durchschnitt auf über 10 Tage nach Ablauf der Wartezeit, bei den 60 - 79 Tage trockengestellten und aufgrund Oxacillin-positiver Viertelgemelke aufgefallenen 10 Kühen dagegen im Mittel nur auf etwa 4 Tage. Die Ergebnisse lassen jedoch erkennen, daß selbst bei Tieren mit vergleichbarer Trockenstelldauer z.T. beträchtliche individuelle Unterschiede hinsichtlich des Vorkommens von Oxacillin-Rückständen in den Viertelgemelken bzw. der Dauer der Ausscheidung bestanden (Tab. 21). So schieden z.B. die 50 - 59 Tage trockengestellten Kühe nach Ablauf der Wartezeit Oxacillin-Rückstände entweder gar nicht (67,3 % der Tiere) oder über 3 bis 25 Tage aus.

Bei näherer Betrachtung der Einzeldaten stellte sich dann heraus, daß nicht nur zwischen den Kühen, sondern bei vielen Kühen auch zwischen den einzelnen Vierteln der betreffenden Kuh beträchtliche Differenzen im Oxacillin-Gehalt bestanden. Dabei ließ sich aber keine Gesetzmäßigkeit hinsichtlich der Verteilung der positiven Befunde auf bestimmte Viertel (z.B. Vorder- oder Hinterviertel) registrieren. Zu ähnlichen Ergebnissen waren im übrigen auch GEDEK und RICHTER (1972) sowie JOHNSON et al. (1977) - allerdings bei anderen Trockenstellern - gekommen. Selbst bei den einzelnen Euter-

vierteln schwankte die Oxacillin-Ausscheidung des öfteren von Tag zu Tag. Dies war bei mehreren Tieren feststellbar, doch zeigte sich dies besonders deutlich bei einer über einen Zeitraum von 29 Tagen trocken-gestellten Kuh, die bis zu 32 Tage nach Ablauf der Wartezeit Oxacillin ausschied. Es kam auch vor, daß einzelne Viertelgemelke bereits tagelang frei von Rückständen waren und auf einmal wieder Oxacillin in Konzentrationen bis zu $0,4 \mu\text{g/ml}$ Milch ausschieden. Dieses Phänomen, das im übrigen auch in der Arbeit von MOL et al. (1970) beschrieben wird, weist darauf hin, daß wohl die Oxacillin-Ausscheidung nicht kontinuierlich erfolgen muß.

Wahrscheinlich sind die Unterschiede in der Ausscheidungszeit zwischen den Vierteln durch eine ungleichmäßige Verteilung und ungünstige Lokalisation des Oxacillins im Euter bedingt, wobei dies Folge differierender Involutionsprozesse während der Trockenzeit (HEIDRICH und RENK, 1963) oder der Bildung pathologischer Hohlräume (Taschen) sein kann. Von besonderem Interesse ist in diesem Zusammenhang die Beobachtung von SCHÄLLIBAUM (1986). Er fand bei einer Kuh, die nach Trockenstellen mit einem Penicillin-haltigen Präparat durch lange Ausscheidungszeit aufgefallen war, in allen Vierteln in der Nähe der Drüsenzisterne und der größeren Milchgänge 1 - 2 cm große Zysten. Diese Zysten, die sich histologisch als stark dilatierte Räume darstellten, waren mit weiß-gelbem wäßrigen oder cremeartigen Inhalt gefüllt. SCHÄLLIBAUM geht davon aus, daß die Rückstände aus derartigen Zysten stammten, in denen sich Penicillin in Konzentrationen von 0,02 bis 2,25 IE/ml nachweisen ließ. Als Ursache für derartige Zysten kommen insbesondere chronische Euterentzündungen in Frage (HEIDRICH und RENK, 1963), doch können sie auch aufgrund einer

Fremdkörperreaktion des Drüsengewebes (SCHÄLLIBAUM, 1986) entstehen. Ein Zusammenhang zwischen Ausscheidungsdauer und zyto-bakteriologischem Befund der entsprechenden Viertelgemelksproben kann demgegenüber aufgrund der eigenen Ergebnisse und der Angaben von SCHÄLLIBAUM (1986) ausgeschlossen werden.

Die Anzahl der Tiere mit Oxacillin-haltigen Gesamtgemelken am ersten Tag nach Ablauf der Wartezeit war mit 26 zwar wesentlich niedriger als die jener mit positiven Viertelgemelken, doch lag der Anteil am gesamten Untersuchungsmaterial mit 17,2 % überraschend hoch. Dabei reichten die Oxacillin-Konzentrationen von 0,02 bis 1,16 µg Oxacillin/ml, was einen Durchschnittswert von 0,12 µg/ml ergab. Die durchschnittliche Oxacillin-Konzentration war damit ebenfalls wesentlich niedriger als die der Viertelgemelke und nahm stetig ab; sie betrug acht Tage nach Ablauf der Wartezeit bei den verbliebenen 5 Kühen (3,3 %) noch 0,04 µg/ml. Am 15. Tag waren sämtliche Gesamtgemelke frei von nachweisbaren Oxacillin-Rückständen.

HAMANN und HEESCHEN (1983) kamen bei Prüfung von 24 - 30 Gesamtgemelken zu günstigeren Werten, obwohl ihr Nachweissystem mit 0,01 µg Oxacillin/ml empfindlicher war als das eigene (0,02 µg/ml). Nach den Angaben dieser Autoren lagen die arithmetischen Mittelwerte der Oxacillin-Konzentrationen am 1. bis 3. Tag nach Ablauf der Wartezeit in einem Bereich von 0,006 bis 0,003 µg/ml. Allerdings ist aus der Arbeit nicht ersichtlich, bis zu welchem Tag nach Ablauf der Wartezeit im Gesamtgemelk Rückstände in nachweisbarer Menge auftraten, da keine Informationen über den 3. Tag hinaus vorliegen. In älteren Publikationen von GHANE-KHIABANIAN (1972) und WALLNER (1972) wird sogar berichtet, daß bei 67 bzw. 4

mindestens 35 Tage vor dem Abkalben trockengestellten Kühen nach Ablauf der Kolostralmilchphase (5 Tage) keine Oxacillin-Rückstände mehr im Gesamtgemelk auftreten. Andererseits wurde in den letzten Jahren aus der Praxis immer wieder über die angegebene Wartezeit hinausgehende Ausscheidungszeiten berichtet. So teilte z.B. BUFF (1986) mit, daß das Gesamtgemelk einer Kuh, die 8 Wochen trockengestellt war, noch etwa 18 Wochen nach dem Abkalben Oxacillin-Rückstände aufwies. TERPLAN (1983) registrierte sogar eine Ausscheidungs-dauer von ca. 20 Wochen bei einer Kuh, die 36 Tage vor dem Abkalben trockengestellt worden war. Nach Auskunft des Herstellers dieses Präparates wurde er auch 1986 von einigen Praktikern auf Fälle einer deutlich verzögerten Ausscheidung im Gesamtgemelk hingewiesen. Möglicherweise sind o.a. günstigere Ergebnisse dadurch bedingt, daß weniger Tiere als bei den eigenen Versuchen trockengestellt worden und diese Tiere nach Ablauf der Wartezeit zufälligerweise Rückstände gar nicht oder nur noch über wenige Tage ausschieden.

Die Unterschiede in der Zahl der Tiere mit Oxacillin-positiven Viertelgemelken bzw. Oxacillin-positivem Gesamtgemelk lassen sich damit erklären, daß Oxacillin- positive Gesamtgemelke fast nur registriert wurden, wenn in mindestens 3 Viertelgemelken/Kuh Rückstände vorhanden waren. Bei weniger positiven Viertelgemelken/Kuh stellten Oxacillin-haltige Gesamtgemelke dagegen - bedingt durch die starke Verdünnung seitens der 2 bzw. 3 rückstandsfreien Viertelgemelke - die Ausnahme dar. Auch die im Vergleich zu den Viertelgemelken kürzeren Ausscheidungszeiten sind auf diesen Verdünnungs-effekt zurückzuführen.

Zwischen der Trockenstelldauer der Tiere und der Ausscheidung von Oxacillin-Rückständen im Gesamtgemelk (Tab. 22) ergaben sich - vermutlich aufgrund der unterschiedlichen Verdünnungseffekte - weniger starke Zusammenhänge als bei den Viertelgemelken (Tab. 21). Allerdings deutet sich an, daß bei weniger als 40 Tage trockengestellten Kühen nach Ablauf der Wartezeit häufiger mit Rückständen zu rechnen ist als bei mindestens 40 Tagen trockengestellten Kühen (Tab. 22). Ähnliche Differenzen ließen sich bezüglich der Ausscheidungsdauer allerdings nicht erkennen. Die Ergebnisse lassen jedoch die Annahme zu, daß bei Anwendung des geprüften Oxacillin-haltigen Trockenstellers Rückstände deutlich über die Kolostralmilchphase hinaus nur dann die Ausnahme darstellen, wenn die Trockenstellzeit mindestens 60 Tage (statt 35 Tage wie vom Hersteller angegeben) betragen hat. Vergleiche mit drei anderen in der Bundesrepublik gebräuchlichen Trockenstellern zeigten, daß Rückstände des in den eigenen Versuchen eingesetzten Präparates - vermutlich durch dessen galenische Formulierung bedingt - nach Ablauf der vom Hersteller angegebenen Wartezeit am häufigsten und längsten nachgewiesen wurden (ZAADHOF, 1986). Auch für andere Trockensteller sind mit einer Ausnahme (SCHÄLLIBAUM, 1986) keine ähnlich langen Ausscheidungszeiten (bei vergleichbarer Trockenstellzeit) berichtet worden (s. Abschnitt 2.3).

Tabelle 22: Beziehung zwischen Trockenstelldauer und Ausscheidung von Oxacillin-Rückständen im Gesamtgemelk nach Ablauf der Wartezeit

Trockenstell- dauer (d)	Anzahl der Kühe	davon mit Oxacillin-pos. Gesamtgemelk	Dauer der Ausscheidung (d)			Extremwerte
			$\bar{x}_a$	$\pm$	s	
≥ 80	7	0	./.			./.
70 - 79	10	2 (20 %)	1	$\pm$ 0		1
60 - 69	41	0	0	-		./.
50 - 59	55	13 (23,6 %)	5,15	$\pm$ 4,5		1 - 14
40 - 49	29	7 (24,1 %)	3,86	$\pm$ 4,3		1 - 13
35 - 39	2	1 (50 %)	2	./.		2
20 - 34	7	3 (42,9 %)	5,66	$\pm$ 3,2		2 - 8

Durch zusätzliche Untersuchungen konnte im übrigen festgestellt werden, daß die Milchleistung der Kühe bzw. der Milchfettgehalt der Milch offenbar keinen Einfluß auf die Ausscheidung von Oxacillin-Rückständen hatten. Zu ähnlichen Ergebnissen waren hinsichtlich des Einflusses der Milchleistung auch GEDEK und RICHTER (1972) gekommen.

Obwohl ein relativ hoher Anteil der Kühe Oxacillin (z.T. weit) über die Wartezeit hinaus ausschied, waren doch die Konzentrationen der positiven Gesamtgemelke so niedrig, daß sie sich aufgrund des Verdünnungseffektes seitens der rückstandsfreien Gesamtgemelke bis auf eine Ausnahme in der B e s t a n d s m i l c h nicht bemerkbar machten. Die Ausnahme war ein kleiner Neben-erwerbsbetrieb mit nur 4 Kühen, von denen 2 mit Oxacillin

trockengestellt worden waren und am gleichen Tag gekalbt hatten. Eine weitere Kuh stand am Ende der Laktation, so daß die gesamte Bestandsmilch zu der Zeit (ab 6. Tag nach Ablauf der Wartezeit) nur 53 l/Tag betrug. Die Gesamtgemelke der beiden mit Trockensstellern behandelten Kühe (insgesamt 39 l/Tag) enthielten in den ersten beiden Tagen nach Ablauf der Wartezeit so hohe Oxacillin-Konzentrationen, daß die Bestandsmilch (jeweils 0,04 µg/ml) ebenfalls positiv reagierte. Auch von BUFF (1986) und dem Hersteller des Präparates wurde berichtet, daß in Einzelfällen Oxacillin-Rückstände in der Bestandsmilch nachgewiesen wurden. Dabei waren auch größere Milchviehbestände als der des o.a. Nebenerwerbsbetriebes betroffen.

Die bisher besprochenen Ergebnisse beziehen sich auf den Agar-Diffusionstest. Aus Tabelle 23 geht hervor, daß in den Viertelgemelken mit dem Brillantschwarz-Reduktionstest (BRT) erheblich seltener Hemmstoffe nachgewiesen wurden. Bei den Gesamtgemelken bestand demgegenüber fast kein Unterschied zwischen Agar-Diffusionstest (Tab. 6) und BRT (Tab. 11), die beiden Bestandsmilchproben wurden mit beiden Testsystemen erfaßt. Ein Vergleich der Einzelergebnisse ließ erkennen, daß mit dem BRT vor allem solche Proben nicht erfaßt wurden, die entsprechend dem Agar-Diffusionstest Oxacillin-Konzentrationen von 0,02 bis 0,03 µg/ml aufwiesen. Derartige Proben waren unter den Viertelgemelken am häufigsten zu finden gewesen. Offensichtlich bestand ein geringer Unterschied in der Empfindlichkeit der beiden Testsysteme, obwohl bei den Modellversuchen für beide eine Nachweisgrenze von 0,02 µg/ml ermittelt worden war. Von Bedeutung für die Erhebung zur Anwesenheit von Oxacillin-Rückständen in der nach-

folgenden Laktation ist die Tatsache, daß mit dem BRT keine Probe ermittelt wurde, die nicht auch im Agar-Diffusionstest positiv reagiert hatte.

Tabelle 23: Nachweis von Hemmstoffen mit Agar-Diffusionstest und Brillantschwarz-Reduktionstest (BRT) in Viertelgemelken von 151 antibiotisch trocken-gestellten Kühen

Tage nach Ablauf der Wartezeit	Anzahl der Kühe mit hemmstoffpositiven Viertelgemelken im Agar-Diffusionstest		Anzahl der Kühe mit hemmstoffpositiven Viertelgemelken im BRT	
	n	%	n	%
1	61	40,4	43	28,5
2	54	35,8	43	28,5
3	45	29,8	33	21,9
4	35	23,2	27	17,9
5	31	20,5	24	15,9
6	27	17,9	20	13,2
7	23	15,2	17	11,3
8-14	17	11,3	14	9,3
15-21	4	2,6	4	2,6
22	3	2,0	2	1,3
26	1	0,7	0	-
33	0	-	0	-

Neben der Ausscheidungsdauer wurde auch die **Wirksamkeit** des Oxacillin-haltigen Trockenstellers geprüft. Dazu wurde der **Gesundheitszustand des Euters** vor dem Trocken-

stellen durch zytologische und bakteriologische Untersuchung festgestellt. Es stellte sich heraus, daß der Anteil der Kühe, die im Schalm-Mastitis-Test (SMT) auf mindestens 1 Viertel positiv reagierten, mit 66,9 % relativ hoch war (s. Tab. 13). Dies ist nicht verwunderlich, da am Ende der Laktation eine leichte Erhöhung des Zellgehaltes als physiologisch angesehen wird. Nach Überprüfung der positiv reagierenden Milchproben mit dem Kieler Ausstrichverfahren verringerte sich der Anteil der Kühe mit erhöhtem Zellgehalt auf mindestens 1 Viertel auf 42,4 %. Diese Unterschiede lassen sich wohl damit erklären, daß beim SMT offensichtlich auch falsch-positive Reaktionen auftreten können (OBIGER, 1961 und 1962). Bei der Betrachtung der Kieler Ausstriche stellte sich heraus, daß es sich bei erhöhtem Zellgehalt fast immer, bei sehr stark erhöhtem Zellgehalt ausnahmslos um eine Zunahme der Granulozyten handelte, was für einen Entzündungsvorgang spricht. Bei etwa einem Drittel dieser Proben war auch eine Phagozytose von Keimen (insbesondere Kokken) zu beobachten. Bei der bakteriologischen Untersuchung wurden bei etwa 80 % der Viertelgemelke mit erhöhtem Zellgehalt (Kieler Ausstrich) euterpathogene Mikroorganismen ($>250/\text{ml}$) nachgewiesen. Die Grobdifferenzierung (s. Abb. 2) erbrachte dann, daß es sich bei diesen Keimen zu etwa zwei Drittel um Streptokokken (außer *Sc. agalactiae*, der nicht nachgewiesen wurde) und zu etwa einem Drittel um Micrococcaceae (einschließlich *S. aureus*) handelte. Außerdem wurden aus 2 (1,9 %) der Proben mit kulturellem Befund Gramnegative isoliert, die nicht weiter differenziert wurden. Auffällig war, daß bei etwa der Hälfte der Proben, die entsprechend dem Kieler Ausstrichverfahren einen normalen Zellgehalt aufwiesen, ebenfalls euterpathogene Keime nachgewiesen wurden.

Auch hier dominierten die Streptokokken. Es ist zu vermuten, daß in diesen Fällen latente Infektionen vorgelegen haben, obwohl nicht auszuschließen ist, daß die Keime von Veränderungen an der Öffnung oder Besiedlungen des Stichkanals selbst stammen.

Die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchungen der am 6. Tage nach dem Abkalben gezogenen Viertelgemelksproben deuten darauf hin, daß das verwendete Oxacillinhaltige Trockenstellpräparat gegenüber euterpathogenen Keimen sehr gut wirksam war. So konnten nur aus 16,2 % der Viertel mit erhöhtem Zellgehalt (vor dem Trockenstellen) die gleichen Keime auch nach dem Abkalben isoliert werden, bei den Vierteln mit normalem Zellgehalt (vor dem Trockenstellen) belief sich dieser Anteil sogar nur auf 12,9 %. Die Viertel, die vor dem Trockenstellen *S. aureus* bzw. Gramnegative enthalten hatten, waren nach dem Abkalben frei von diesen Keimen und die Anzahl der Viertel, in denen vor dem Trockenstellen sonstige Micrococcaceae bzw. Streptokokken nachgewiesen worden waren, war um deutlich über 80 % zurückgegangen. Die Zahl der Tiere mit positivem bakteriologischen Befund hatte um etwa 80 % abgenommen. Auch NEUMEISTER et al. (1973) erreichten mit dem gleichen Präparat eine Heilungsquote von annähernd 90 % der Kühe, sofern es zum Zeitpunkt des Trockenstellens appliziert wurde. Bei einem späteren Applikationszeitpunkt verschlechterte sich die therapeutische Wirkung deutlich. Den Ergebnissen von DANNEMANN (1973) ist zu entnehmen, daß bei Verwendung des gleichen Trockenstellpräparates in 74 % der mit Staphylokokken, in 75 % der mit Mikrokokken, in 78 % der mit Mischkulturen sowie in 74,4 % der mit Streptokokken infizierten Viertel diese Erreger bei Untersuchungen nach

dem Kalben nicht mehr nachgewiesen werden konnten. GHANE-KHIABANIAN (1972) hatte zuvor ebenfalls von einer deutlichen Verringerung der mit Galtstreptokokken bzw. koagulasepositiven Staphylokokken infizierten Viertel berichtet, wobei sich ein Heilungserfolg von über 80 % ergab.

Bei 25 von 151 Kühen (16,6 %) bzw. 25 von 597 Vierteln (4,2 %) konnten erst nach dem Abkalben potentiell euterpathogene Mikroorganismen (9 mal Gramnegative, 7 mal Streptokokken (ohne *S. agalactiae*) und 9 mal Micrococcaceae (ohne *S. aureus*)) gefunden werden. Diese niedrige "Neuinfektionsrate" nach dem Trockenstellen mit Oxacillin wird auch von anderen Autoren bestätigt. NEUMEISTER et al. (1973) fanden nur bei einer von 198 vor dem Trockenstellen eutergesunden Kühen auf einem Viertel nach dem Abkalben eine Besiedelung mit hämolysierenden Staphylokokken. DANNEMANN (1973) stellte in seinen Untersuchungen mit demselben Präparat eine Neuinfektion bei 6 Kühen auf mindestens einem Viertel (7,6 %) fest; sämtliche Neuinfektionen waren durch Staphylokokken verursacht. GHANE-KHIABANIAN (1972) untersuchte zwar nicht die Neuinfektionsrate an sich, doch verfolgte er den Anstieg der Infektionsrate über die ersten 6 Wochen nach dem Abkalben und stellte dabei einen Anstieg der Galtstreptokokken um 4,4 % sowie der koagulasepositiven Staphylokokken um 4,1 % fest. Die Neuinfektionsrate bei unbehandelten Tieren liegt wesentlich höher. SMITH et al. (1966 und 1967b) stellten bei Kontrolltieren eine Zunahme um 18 %, ROSENZUAIG und MAYER (1970) sogar eine solche um 22 % fest. Die prophylaktische Behandlung mit dem Oxacillin-Präparat zu Beginn der Trockenzeit ist daher auch eine effektive Maßnahme gegen Neuinfektionen in dieser Periode.

6 ZUSAMMENFASSUNG

1. Bei 151 von 164 mit einem handelsüblichen Oxacillin-haltigen Präparat trockengestellten Kühen wurde geprüft, ob nach Ablauf der Wartezeit (je nach Behandlungstermin: 6. Tag nach Laktationsbeginn bzw. 41. Tag nach dem Trockenstellen) noch Rückstände in der Milch feststellbar sind. Zu diesem Zweck wurden Viertelgemelke (Endgemelke), Gesamtgemelke sowie Bestandsmilchproben im Agar-Diffusionstest mit *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* als Testkeim (Blättchentest) untersucht und bei positivem Ausfall des Tests nach Zugabe von Penicillinase-Lösung (40.000 E/ml) erneut getestet (Nachweisgrenze: 0,02 µg Oxacillin/ml Milch).

50 Tiere (33,1 %) schieden am 1. Tag nach Ablauf der Wartezeit noch auf mindestens einem Viertel Oxacillin-Rückstände aus; bei einer Kuh waren diese sogar noch bis zum 32. Tag nach Ablauf der Wartezeit zu beobachten. 26 Kühe (17,2 %) wiesen am 1. Tag nach Ablauf der Wartezeit auch im Gesamtgemelk Oxacillin auf ($\bar{x}_a$: 0,12 µg/ml), ab dem 15. Tag konnten in Gesamtgemelken keine Rückstände mehr nachgewiesen werden. Nur in einem Tierbestand, in dem 2 von 4 Tieren trockengestellt worden waren, war die Bestandsmilch zwei Tage lang mit Oxacillin-Rückständen (0,04 µg/ml) belastet.

2. Bei den Kühen wurden außerdem vor dem Trockenstellen bzw. am 6. Tag nach dem Abkalben Viertelgemelkproben zytobakteriologisch bzw. bakteriologisch untersucht,

um die Wirksamkeit des Präparates gegenüber euterpathogenen Keimen zu kontrollieren. Dabei zeigte sich, daß die Anzahl der Viertelgemelke bzw. Kühe mit positivem bakteriologischen Befund um etwa 80 % zurückgegangen war, wobei geringe Unterschiede in Abhängigkeit von der Art des Erregers bestanden.

7 SUMMARY

Investigations about elimination and effectiveness after drying off of cows with an Oxacillin-preparation

1. In 151 of 164 cows dried off with a commercially available Oxacillin preparation it was examined, whether there are Oxacillin-residues in the milk after the expiration of the with-holding time (dependent on the date of treatment: 6th day after onset of lactation or the 41st day after drying off). For this purpose quarter-milk samples (strippings), bulked milk samples as well as farm milk samples were tested by the agar-diffusion-assay (disk assay) with *Bac. stearothermophilus* var. *calidolactis* as test organism and in the case of a positive result retested (limit of detection: 0.02 µg/Oxacillin/ml milk) after addition of penicillinase (40.000 U/ml).

50 cows (33.1 %) eliminated Oxacillin-residues on the first day after the expiration of the with-holding time in at least one quarter-milk sample; 1 cow did this even until the 32nd day after the expiration of the with-holding time. 26 cows (17.2 %) had also Oxacillin-residues in the bulked milk samples ($\bar{x}_a$: 0.12 µg/ml) on the first day after the end of the with-holding time, but after a fortnight residues could not be detected any longer. Only the milk of one farm, in which 2 of the 4 cows had been dried off, was contaminated by Oxacillin-residues (0.04 µg/ml) for two days.

2. Moreover quarter-milk samples have been examined cytobacteriologically (before drying off) or bac-

teriologically (on the 6th day after calving) to control the effectiveness of the preparation against udder pathogens. It was shown that the number of quarter-milk samples and cows with positive bacteriological results at drying off could be reduced for about 80 %.

8. LITERATURVERZEICHNIS

ARNOLD, D. (1983):

Wie die Verbraucher besser geschützt werden könnten.

Natur 10, 29;

ARRET, B., D.P. JOHNSON und A. KIRSHBAUM (1971):

Outline of details for microbiological
assays of antibiotics: Second revision.

J. Pharm. Sci. 60, 1689-1694;

AUHAGEN, E., Ch. GLOXHUBER, G. HECHT, Th. KNOTT, H. OTTEN,

E. RAUENBUSCH, J. SCHMID, W. SCHOLTAN und A.M. WALTER (1962):

Oxacillin-Stapenor^R, ein penicillinasefestes
Oralpenicillin.

Arzneimittel-Forschung 12, 781-791;

BAYER Produktinformation (1986):

Stapenor^R

Stapenor^R retard

Zur Prophylaxe und Therapie bakterieller Euter-
infektionen.

Bayer Geschäftsbereich Veterinär, Leverkusen;

BECKER, W. (1976):

Zur Möglichkeit einer Allergisierung und Auslösung
allergischer Erscheinungen nach oraler Aufnahme von
antibiotikahaltigen Lebensmitteln (Literaturlauswertung).

Arch. Lebensmittelhyg. 27, 181-185;

BEYER, F. (1986):

Hemmstoffe in Milch aus technologischer Sicht.

Dtsch. Molk.-Ztg. 107, 898-899;

BUFF, B. (1983): pers. Mitteilung;

Bundesgesundheitsamt (BGA) (1980):

Nachweis von Hemmstoffen in der Milch
(Referenzverfahren).

Amtl. Sammlung von Untersuchungsverfahren
nach § 35 LMBG, Band I/1, L 01.00-6
Beuth Verlag, Berlin;

Bundesgesundheitsamt (BGA) (1982):

Nachweis von Hemmstoffen in Milch (Brillantschwarz-
Reduktionstest).

Amtl. Sammlung von Untersuchungsverfahren
nach § 35 LMBG, Band I/1, L 01.00-11
Beuth Verlag, Berlin;

Bundesgesundheitsamt (BGA) (1984):

Nachweis von Hemmstoffen in Milch (Routinerverfahren).
Amtl. Sammlung von Untersuchungsverfahren
nach § 35 LMBG, Band I/1, L 01.00-18
Beuth Verlag, Berlin;

Bundesgesundheitsamt (BGA) (1984):

Erste Bekanntmachung über Nachweisgrenzen und
Fristen zum Einreichen von Unterlagen über Rück-
standsnachweisverfahren und Kontrollmethoden für
Tierarzneimittel.

Bundesanzeiger Nr. 242 v. 28.12.1984, S. 14137-14138;

BOURGAT-SACAZE, V. und Cl. PETIT (1983):

Antibiotherapie intramammaire notious pratiques
de pharmacocinetique.

Rec.Méd.Vét. 159, 561-573;

CHRISTIE, R., N.E. ATKINS und E. MUNCH-PETERSEN (1944):

A note on a lytic phenomenon shown by group
B streptococci.

Austr.J.exp. Biol.med.Sci 22, 197-200;

DANNEMANN, R. (1973):

Versuche zur Verbesserung der Eutergesundheit
durch Trockenstellen von Milchkühen mit
Benzathin-Oxacillin (Stapenor^R retard Bayer AG)
und Benzathin-Cloxacillin (Gelstaph^R T.S.
Beecham R.L.).

Diss.med.vet. Berlin;

Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) (1983):

Rückstände in Lebensmitteln tierischer Herkunft.

Verlag Chemie, Weinheim;

Deutsches Institut für Normung (DIN) (1981):

Nachweis von Hemmstoffen in Milch
(Referenzverfahren),
DIN 10 182, Teil 1.

Beuth Verlag, Berlin;

Deutsches Institut für Normung (DIN) (1982):

Nachweis von Hemmstoffen in der Milch
(Brillantschwarz-Reduktionstest),
DIN 10 182, Teil 2.

Beuth Verlag, Berlin;

Deutsches Institut für Normung (DIN) (1983):

Nachweis von Hemmstoffen in der Milch (Routineverfahren),
DIN 10 182, Teil 3.

Beuth Verlag, Berlin;

Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft (DVG) (1980):

Die subklinische Mastitis des Rindes.
Vorschläge für Bundeseinheitliche Richtlinien zu
ihrer Bekämpfung.

Fachgruppe Milchhygiene des Arbeitsgebietes
Lebensmittelhygiene, Kiel;

DODD, F.H. und T.K. GRIFFIN (1975):

The role of antibiotics treatment at drying off
in the control of mastitis.

Proc. IDF Seminar on Mastitis Control 1975
Reading University, England;

DODD, F.H. und F.K. NEAVE (1951):

Machine milking rate and mastitis.

J. Dairy Res. 18, 240-245;

DOYLE, F.P., A.A.W. LONG, J.H.C. NAYLER und E.R. STOVE (1961):

New penicillins stable towards both acid and
penicillinase.

Nature 192, 1183-1184;

EGAN, J. und W.J. MEANEY (1985):

Persistence of detectable residues of penicillin and cloxacillin in normal and mastitic quarters following intramammary infusion.

Vet.Rec. 116, 436-438;

FIEBIGER, J. (1976):

Ein Beitrag zum Problem der Ausscheidung von Antibiotika mit der Milch nach intrauteriner Applikation beim Rind.

Diss.med.vet. Berlin;

FLASSHOFF, J. (1974):

Erhebungen über den Hemmstoffgehalt von Rohmilchproben im Molkereieinzugsgebiet eines Landkreises in Nordrhein-Westfalen.

Diss.med.vet. München;

GARHAMMER, M. (1972):

Verweildauer und Verteilung von Oxacillin im Euter der Kuh nach Behandlung beim Trockenstellen.

Diss.med.vet. München;

GEDEK, W. (1973):

Ausscheidung von Antibiotika mit der Milch.

Tierärztl. Praxis 1, 245-251;

GEDEK, W. (1979):

Die antibiotische Versorgung des Rindereuters beim Trockenstellen - eine kurze Übersicht.

Tierärztl. Umschau 34, 4-14;

GEDEK, W. (1984):

Hemmstoffe in der Milch: Alte und neue Fragen.

Dtsch.Molk.-Ztg. 105, 1779-1787;

GEDEK, W. (1986):

Hemmstoffe in Milch aus tierärztlicher Sicht.

Dtsch.Molk.-Ztg. 107, 894-897;

GEDEK, W. und Chr. BAÄTH (1976):

Erfassung Penicillinase-fester Penicilline in Milch
durch Penicillin- β -Lactamase.

Arch. Lebensmittelhyg. 27, 170-172;

GEDEK, W. und O. RICHTER (1972):

Arzneimittel-Hemmstoffe in der Milch nach intra-
mamärer Behandlung in der Trockenzeit.

Zbl.Vet.Med.B 19, 40-44;

GEDEK, W. und G. TERPLAN (1974):

Blutspiegel- und Harnspiegel-Zeit-Kurven von
Isoxazolyl-Penicillinen nach intrazisternaler
Verabreichung beim Rind.

Arch.Lebensmittelhyg. 25, 271-273;

GEDEK, W., S. FASTNER und O. GÜNZLER (1975):

Antibiotika-Milchspiegelbestimmungen beim Rind
nach intrauteriner Verabreichung handelsüblicher
Pharmaka.

Tierärztl. Umschau 30, 223-227;

GEDEK, W., P. MATZKE und Chr. BAATH (1976):

Verweildauer von Antibiotika im Trockensekret,
Blutserum und Harn vom Rind nach Euterbehandlung
beim Trockenstellen.

Tierärztl. Umschau 31, 383-386;

GEHRINGER, M. (1986): Pers. Mitteilung;

GHANE-KHIABANIAN, A. (1972):

Prüfung der Wirksamkeit von Oxacillin in der
Mastitisprophylaxe während der Trockenzeit.

Diss.med.vet. Hannover;

GLASBY, J.S. (1979):

Encyclopaedia of Antibiotics.

2. Aufl.

John Wiley, Chichester u.a.;

GOLDSTEIN, A. (1949):

The interaction of drugs and plasmaproteins.

Pharmacol. Rev. 1, 102-165;

GREGERSEN, T. (1978):

Rapid method for distinction of gram-negative
from gram-positive bacteria.

European J. Appl. Microbiol.Biotechnol. 5, 123-127;

GROSSKLAUS, D. (1967):

Antibiotika-Rückstände in der Trinkmilch.

Dtsch.Tierärztl. Wschr. 74, 462-465;

GROSSMAN, A. (1964):

Über die Ausscheidung von Penicillin in Milch nach intramammärer Applikation beim Rind unter besonderer Berücksichtigung von Dosis, Vehikel und Melkfrequenz.

Diss.med.vet. München;

HAMANN, J. und W. HEESCHEN (1983):

Zum Ausscheidungsverhalten von Oxacillin nach interzysternaler Verabreichung von Stapenor^R Retard zum Zeitpunkt des Trockenstellens.

Tierärztl. Umschau 38, 86-90;

HEIDRICH, J.H. und W. RENK (1963):

Krankheiten der Milchdrüse bei Haustieren.

Verlag Paul Parey, Berlin, S. 55;

HENSCHELCHEN, O. und K. WALSER (1983):

Antibiotika-Konzentration in der Milch nach intramammärer Applikation in Abhängigkeit vom Melkintervall.

Tierärztl.Umschau 38, 83-85;

HILL, B.M. und J.M. SMALL (1985):

Antibiotic residue release at the beginning of lactation following dry cow therapy.

New Zealand Vet.J. 33, 105-107;

JACOBS, J., M. KLASENS und A. PENNINGNS (1972):

Een onderzoek naar de eigenschappen van twee zogenoemde "droogzetpreparaten".

Tijdschr. Diergeneesk. 97, 466-476;

JOHNSON, S.D. (1941):

Observations on the treatment of mastitis with
acriflavine.

Cornell Veterinarian 31, 127-148;

JOHNSON, M.E., J.H. MARTIN, R.J. BAKER und J.G. PARSONS (1970):

Persistence of antibiotics in milk from cows treated
late in the dry period.

J.Dairy Sci. 60, 1655-1661;

KAUP, E. (1975):

Penicillin G- und Tetracyclinrückstände in Gemelk-
fraktionen nach intrazisternaler Applikation beim
Rind.

Diss.med.vet. München;

LIMMER, H.D. (1969):

Hemmstoffe in der Milch.

Arch. Lebensmittelhyg. 20, 227-231;

LÖSCHER, W., O. DORNHEIM und F. MÜLLER (1985):

Chloramphenicol in der Muskulatur von Schlacht-
tieren. Rückstandsuntersuchungen mit einer
hochempfindlichen gaschromatographischen Methode.

Arch. Lebensmittelhyg. 36, 109-113;

MARX, M. und R. HAMANN (1982):

Das Vorkommen von Bakterienhemmstoffen in diäte-
tischen Säuglingsnahrungsmitteln und Möglichkeiten
zu ihrem Nachweis.

Vet.med.Berichte 1/1982;

MATTHEIS, A. (1971):

Erhebungen über den Hemmstoffgehalt von An-
lieferungsmilchproben im Einzugsgebiet einer
norddeutschen Molkerei.

Diss.med.vet. Hannover;

MATZKE, P. und W. GEDEK (1983):

Milchhygienische Aspekte der intrauterinen Ver-
abreichung von Totocillin^R.

Vet.med.Nachr. 2/83, 144-149;

MAURER-SCHWEIZER, H. (1973):

Die Ausscheidung einiger Chemotherapeutika in
der Milch von Kühen nach praxisüblicher, parenteraler
Behandlung aus geburtshilflicher und gynäkologischer
Indikation.

Diss.med.vet. München;

MERCER, H.D., J.N. GELETA, E.J. SCHULTZ und W.W. WRIGHT (1970):

Milk-out rates for antibiotics in intramammary
infusion products used in the treatment of bovine
mastitis: Relationship of somatic cell counts,
milk production level, and drug vehicle.

Am.J.Vet.Res. 31, 1548-1560;

MERKENSCHLAGER, M. und U. LÖSCH (1967):

Die Ausscheidung von Tetracyclinen mit der Milch
nach Aufnahme von tetracyclinhaltigem Futter durch
Milchkühe.

Tierärztl. Umschau 22, 423-428;

Methodenkommission (Deutsche Kommission zur Vereinheitlichung der Untersuchungsmethoden für Milch, Milchprodukte und Molkereihilfsstoffe), (1960):

Die mikrobiologischen Methoden für die Untersuchung von Milch und Milcherzeugnissen.

Milchwiss. 15, 120-129;

MEYER, P. (1971):

Verteilung und Ausscheidung von Benzathin-Cloxacillin nach Behandlung des trockenstehenden Euters der Kuh.

Diss.med.vet. München;

Milchprüfung Bayern (1986):

Pers. Mitteilung;

MÖLLE, G. (1983):

Untersuchungen beim Rind zum Verhalten von Arzneimitteln in Abhängigkeit von der Art und vom Ort der Applikation.

Diss.med.vet. Berlin;

MOL, H. und E.C. BAKKER-DE KOFF (1969):

Het voorkomen van antibiotica in de melk van koeien na gebruik en na "misbruik" van penicilline bevaltende injectoren vor intramammaire infusie met een lange werkingsduur.

Tijdschr.Diergeneesk. 94, 608-613;

MOL, H., S. BRANDSMA und E.C. BAKKER-DE KOFF (1970):
Invloed van de duur der droogstanperiode op het
voorkomen van antibiotikaresiduen in de melk
na behandeling met penicilline houdende preparaten
met een lange werkingsduur aan het begin der
droogstandperiode.

Tijdschr. Diergeneesk. 95, 785-791;

NEAVE, F.K., F.H. DODD und R.G. KINGWILL (1966):
A method of controlling udder disease.

Vet.Rec. 78, 521-523;

NEAVE, F.K., A. SMITH und F.H. DODD (1967):
Dry cow therapy.

Vet.Rec. 81, 174;

NEUMAN, M. (1981):
Antibiotika-Kompendium.

Verlag Huber, Bern u.a., S. 106;

NEUMANN, Cl. (1987): Diss.med.Vet. in Vorbereitung;

NEUMEISTER, E., H. BARSCH, K. SCHMID und J. KALTENEGGER (1973):
Über die Euterverträglichkeit, Ausscheidungsdauer
und therapeutische Wirkung von Stapenor^R.

Dtsch.tierärztl.Wschr. 80, 10-12;

NEUMEISTER, E., W. BAUMGARTNER, R.E. FERNANDO (1975):
Über die Verweildauer und therapeutische Wirkung
verschiedener Antibiotikaformulierungen nach
Euterinstillation zum Zeitpunkt des Trockenstellens.

Wien. tierärztl. Mschr. 62, 387-390;

NÜSE, K.-H. (1982):

Sammlung Lebensmittelrechtlicher Entscheidungen

13, 111-114;

OBIGER, G. (1961):

Reichweite und Bedeutung der sogenannten Schnell-
methode sowie weiterer Laboratoriumsuntersuchungen
zur Feststellung von Euterentzündungen.

Kieler Milchw. Forsch.Ber. 13, 293-304;

OBIGER, G. (1962):

Mastitisdiagnose.

Kieler Milchw. Forsch.Ber. 14, 307-325;

OLIVER, S.P., R.T. DUBY, R.W. PRANGE und J.P. TRITSCHLER (1984):

Residues in colostrum following antibiotic dry cow
therapy.

J. Dairy Sci. 67, 3081-3084;

PACKER, R.A. (1948):

Penicillin therapy in chronic bovine mastitis.

II. Penicillin Levels in the udder during treatment.

Amer.J.vet.Res. 9, 259-263

zit. nach Dairy Sci.Abstr. 11, 157-158;

PEARSON, J.K.L. (1951):

Further experiments in the use of penicillin in the
prevention of C.pyogenes infection of the non-
lactating bovine udder.

Vet.Rec. 63, 215-220;

PFEIFFER, U. (1975):

Antibiotika-Blut- und -Harnspiegelbestimmungen
beim Rind nach intramammärer Applikation.

Diss.med.vet. München;

PICHNARCIK, J., S. WENZEL, und W. GISSKE (1969):

Beitrag zur Methodik des Hemmstoffnachweises in
Organen und Muskulatur von Schlachttieren.

Arch. Lebensmittelhyg. 20, 272-279;

PUGH, K.E., A.M. HARRIS, M.J. MARSHALL und J.M. EVANS (1973):

Evaluation of a long-acting intramammary preparation
containing high doses of penicillin and streptomycin
for use in dry cows.

Vet.Rec. 93, 212-216;

REITER, B. (1978):

Review of nonspecific antimicrobial factors in
colostrum.

Ann.Rech.Vet. 9, 205-224;

REUSSE, U. (1961):

Über die Ausscheidung von Arzneimitteln mit der
Milch und die Dauer der Ausscheidung.

Dtsch.tierärztl.Wschr. 68, 183, 240;

ROSENZUAIG, A. und E. MAYER (1970):

A note on dry cow therapy in an Israeli dairy herd.

Vet.Rec. 87, 409-410;

SANTARIUS, K. (1985):

Zum Problem der Arzneimittelrückstände in Lebensmitteln tierischer Herkunft.

Fleischwirtschaft 65, 1060-1071;

SEELEMANN, M. (1928):

Technik und Methode der Milchuntersuchung zwecks Feststellung von Sekretionsstörungen bzw. Eutererkrankungen.

Molkerei-Ztg. 42, 2809-2812, 2825-2827;

SEELEMANN, M. und G. OBIGER (1956):

CAMP-Test und TKT-Medium, ihre Bedeutung für Galtdiagnose und Galtbekämpfung.

Milchwiss. 11, 98-103;

SMITH, A., F.K. NEAVE, F.H. DODD und G.C. BRANDER (1966):

Methods of reducing the incidence of udder infection in dry cows.

Vet.Rec. 79, 233-236;

SMITH, A., F.K. NEAVE und A. JONES (1967b):

The persistence of penicillin G in the mammary gland when infused immediately after the last milking of lactation.

J. Dairy Res. 34, 59-64;

SMITH, A., F.K. NEAVE, F.H. DODD, A. JONES und D.N. GORE (1967a):

The persistence of cloxacillin in the mammary gland when infused immediately after the last milking of lactation.

J. Dairy Res. 34, 47-57;

SOMOGYI, A. (1982):

Gesundheitliche Bedeutung von Rückständen pharmakologisch wirksamer Substanzen in der Tierhaltung.

Bundesgesundheitsbl. 25, 365-370;

SCHÄLLIBAUM, M. (1986):

Pers. Mitteilung.

SCHALM, O.W. (1960): .

Ein neuer Mastitis-Test.

Tierärztl. Umschau 15, 151-153;

SCHALM, O.W. und R.W. ORMSBEE (1949):

Effects of management and therapy on staphylococcic mammary infections.

J.Am.Vet.Med.Ass. 115, 464-473;

SCHIPPER, I.A., R.N. REOPELLE und L.J. SCHERMEISTER (1979):

Technique for in-vitro evaluation of release of antibiotics into milk from carrier vehicle.

J. Food Prot. 42, 393-395;

SCHLATTERER, B. (1984):

Freiheit und Bindungen des Tierarztes bei und nach der Verabreichung von Arzneimitteln an lebensmittelliefernde Tiere.

Tierärztl. Praxis 12, 269-279;

SCHMID, A. (1983):

Chloramphenicolrückstände in Lebensmitteln tierischer Herkunft als potentielle Ursache der aplastischen Anämie des Menschen.

Dtsch.tierärztl.Wschr. 90, 201-208;

SCHMID, G. (1969):

Verweildauer und Verteilung von Benzathin-
Cloxacillin im trockenstehenden Euter der Kuh.

Diss.med.vet. München;

SCHMID, G., P. MEYER, M. GARHAMMER und K. WALSER (1973):

Untersuchungen zur Behandlung subklinischer
Mastitiden des Rindes mit Isoxazolyl-Penicillinen
in der Trockenperiode.

3. Mitt.: Die Verweildauer von Isoxazolyl-Penicillinen
im trockenstehenden Euter der Kuh.

Berl.Münch. tierärztl. Wschr. 86, 42-44;

SCHULZE, K. (1986):

Problematik von Arzneimittelrückständen in
Lebensmitteln tierischer Herkunft.

Rdsch. Fleischunters. Lebensmittelüberw. 38, 133-134;

TERPLAN, G. (1983): Pers. Mitteilung;

TERPLAN, G. und K.-J. ZAADHOF (1967):

Zum Vorkommen und Nachweis von Hemmstoffen
in der Milch - eine kurze Übersicht.

Milchwiss. 22, 761-771;

TERPLAN, G. und K.-J. ZAADHOF (1969):

Der Nachweis von Hemmstoffen in der Milch mit
Bacillus stearothermophilus var. *calidolactis*
im Agardiffusionstest und TTC-Schnelltest.

Arch. Lebensmittelhyg. 12, 279-284;

TERPLAN, G. und K.-J. ZAADHOF (1975):

Antibiotika, Hormone und Thyreostatika in Lebensmitteln tierischer Herkunft sowie ihre Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit.

Dtsch. Ärztebl. 72, 344-350;

TRUSSEL, P.C. und W.G. STEVENSON (1949):

The penicillin concentration in milk following insertion of penicillin bougies into the bovine udder.

Canad.J.comp.Med. 13, 127-129

zit. nach Dairy Sci.Abstr. 12, 72;

UHLIG, Ä. (1973):

Die Ausscheidung verschiedener Penicillinarten mit der Milch nach intrauteriner Verarbeitung beim Rind.

Diss.med.vet. München;

UVAROV, O. (1960):

The concentration of some antibiotics in the milk after intramammary infusion.

Vet.Rec. 72, 1228-1231;

WALLNER, B. (1972):

Isoxazolyl-Penicillin-Rückstände in Konsummilch nach intramammärer Trockenzeittherapie beim Rind.

Diss.med.vet. München;

WALTER, A.M. und L. HEILMEYER, (1975):

Antibiotika-Fibel.

4. Aufl.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart, S. 182;

WEIGT, U., O. AGTHE, E. BLECKMANN, D. AHLERS und
H. KEINTZEL (1971):

Anwendung eines penicillinasefesten Langzeit-
penicillins (Bayer 9035 NS) bei Zitzenverletzungen
der Rinder.

Prakt. Tierarzt 13, 559-563;

ZAADHOF, K.-J. (1986):

Das Trockenstellen von Kühen. - Eine mögliche Ursache
für das Vorkommen von Antibiotikarückständen in der
folgenden Laktation?

Gemeinschaftstagung DVG und DGfZ

"Neuzeitliche Methoden und Aspekte der Mastitis-
bekämpfung beim Rind" 19. und 20. Juni 1986 in Grub
bei München;

ZEITRÄG, K. (1970):

Zum biologischen Nachweis aus Futterpflanzen
stammender Hemmstoffe in der Milch.

Diss.med.vet. Hannover;

ZIV, G. (1975):

Pharmacokinetic concepts for systemic and intra-
mammary antibiotic treatment in lactating and dry
cows.

Proc. IDF Seminar on Mastitis Control 1975,
Reading University, England, S. 314-338;

ZIV, G. (1980):

Practical pharmacokinetic aspects of mastitis
therapy - 3: Intramammary treatment.

Veterinary Medicine / SAC 75, 657-670;

ZIV, G. und F. RASMUSSEN (1975):

Distribution of labeled antibiotics in different components of milk following intramammary and intramuscular administrations.

J. Dairy Sci. 58, 938-946;

ZIV, G. und F.G. SULMAN (1975):

Absorption of antibiotics by the bovine udder.

J. Dairy Sci. 58, 1637-1644;

ZIV, G., A. SARAN-ROSENZUAIG und E. GLUCKMANN (1973b):

Kinetic considerations of antibiotic persistence in the udders of dry cows.

Zbl. Vet.Med. B, 20, 425-434;

ZIV, G., A. SARAN-ROSENZUAIG und R. RISENBERG (1973a):

Retention of antibiotics in dry udder secretions after the infusion of several "dry cow" antibiotic products.

Zbl.Vet.Med. B, 20, 415-424;

ZIV, G., S. GORDIN, G. BECHAR und S. BERNSTEIN (1976):

Binding of antibiotics to dry udder secretion and to udder tissue homogenates.

Br.vet.J. 132, 318-322.

Gesetze, Urteile, Verordnungen:

Gesetz zur Neuordnung des Arzneimittelrechts vom
24. Aug. 1976 (BGBl. I S. 2445) in der Fassung vom
16. Aug. 1986 (BGBl. I S. 1296);

Gesetz über den Verkehr mit Lebensmitteln, Tabak-
erzeugnissen, kosmetischen Mitteln und sonstigen
Bedarfsgegenständen (LMBG) vom 15. August 1974
(BGBl. I S. 1946) in der Fassung vom 24. August 1976
(BGBl. I S. 2445, 2481);

Verordnung über die Güteprüfung und Bezahlung der
Anlieferungsmilch (Milch-Güteverordnung) vom 9. Juli 1980
(BGBl. I S. 878) in der Fassung vom 21. Juni 1985
(BGBl. I S. 1151);

Verordnung über Stoffe mit pharmakologischer Wirkung
vom 3. August 1977 (BGBl. I S. 1479) in der Fassung
vom 5. April 1984 (BGBl. I S. 597);

Amtsgericht Cham, Urteil vom 1.10.1982 (OWI 22 Js 531/82);

Landgericht Traunstein, Urteil vom 25.1.1984
(4NS 14 Js 10 934/82)
ZLR 11, 313-318 (1984);

Bay. Oberstes Landesgericht, Urteil vom 5.5.1981
(4St 179/80)
LRE 13, 111-114 (1982).

Abschließend danke ich Herrn Professor Dr. G. TERPLAN für die Überlassung des Themas und seine freundliche Unterstützung.

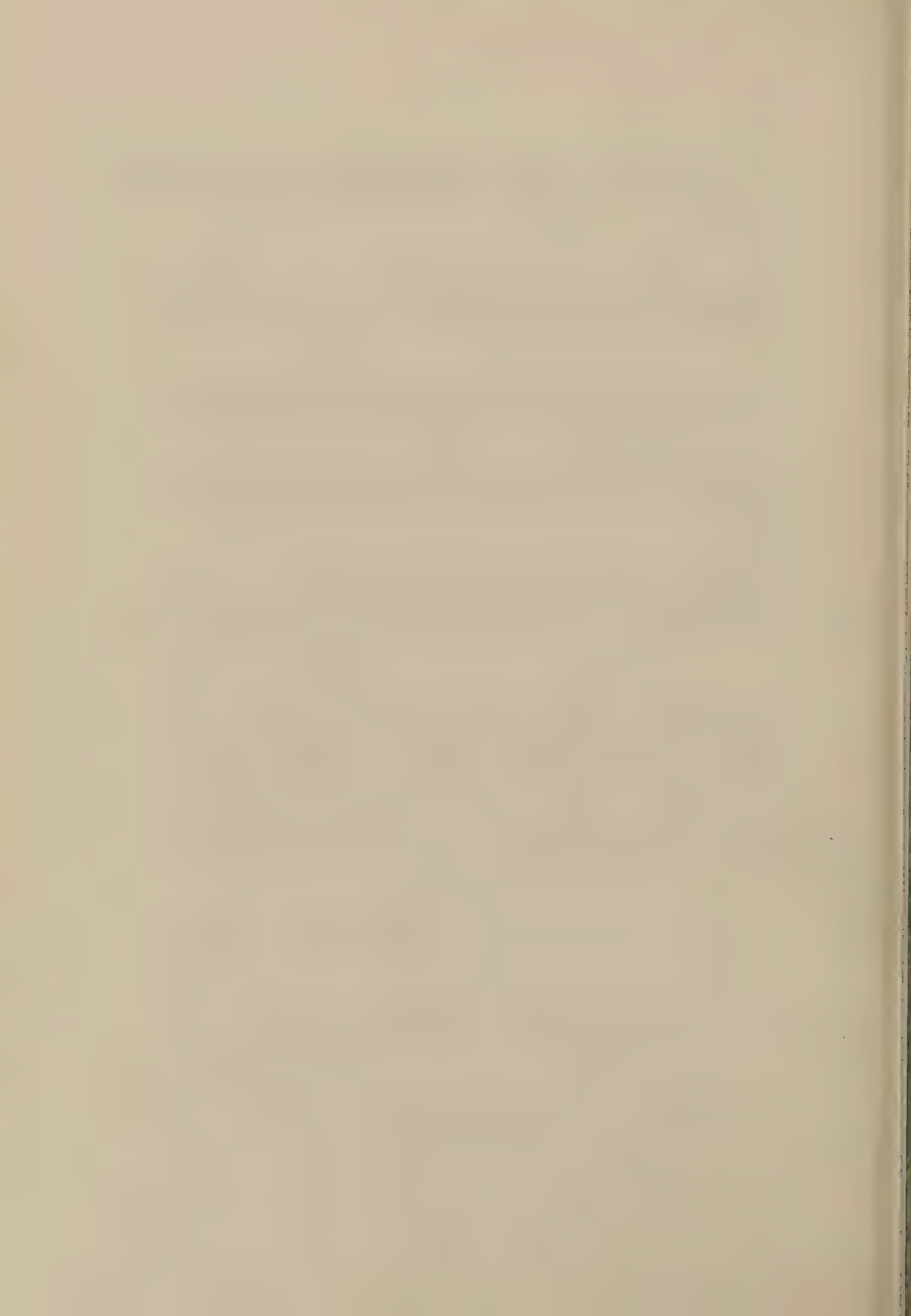
Besonders bedanke ich mich bei Herrn Dr. K.-J. ZAADHOF für seine sehr hilfreichen Anregungen und Unterstützung bei der Durchsicht der Arbeit.

Der Bayer AG danke ich für die kostenlose Überlassung des Trockenstellpräparates sowie die freundliche Unterstützung.

Freundlicherweise stellte die Landesvereinigung der Bayerischen Milchwirtschaft die BRT-Tabletts zur Verfügung.

Ich bedanke mich bei allen Landwirten die mir ihre Kühe zur Verfügung stellten für ihr Vertrauen, ihre Geduld und freundliche Unterstützung bei der Durchführung des Versuchs.

Mein Dank gilt auch allen Mitarbeitern des Instituts, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, insbesondere Frau H. SCHÄFFER für ihre Unterstützung bei der Durchführung des Versuchs sowie Frau M. SCHMIDT für ihre Unterstützung bei der Literatur. Für das Schreiben der Arbeit herzlichen Dank an Frau J. OGRIZEK.



Name: Angela, Michaela FEUERSTEIN

3.2.1959 geboren in Ulm als Tochter des Tierarztes
Dr. Gerhard FEUERSTEIN und seiner Frau
Waltraud geb. Plenefisch

1965-1968 Besuch der Volksschule Lonsee

1968-1978 Besuch des Hans und Sophie Scholl-Gymnasium
Ulm

18.5.1978 Abitur

1978-1980 Ausbildung zur Fremdsprachenkorrespondentin

1980-1985 Studium der Tiermedizin an der Ludwig-
Maximilians-Universität München

5.12.1985 Staatsexamen

Januar 1986 Approbation

seit Februar 1986 mit der Fertigstellung der Dissertation
am Institut für Hygiene und Technologie der
Lebensmittel tierischen Ursprungs der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-
Universität München beschäftigt.

